

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



TESIS DOCTORAL

**Valoración clínica de felinos de Borneo en programas de conservación:
pantera nebulosa sunda (*Neofelis diardi*) y gato leopardo (*Prionailurus
bengalensis*)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Fernando Nájera Muñoz

Directores

**Luis Revuelta Rueda
Ignacio de Gaspar Simón**

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA (FISIOLÓGÍA ANIMAL)

**" VALORACIÓN CLÍNICA DE FELINOS DE BORNEO EN PROGRAMAS DE
CONSERVACIÓN: PANTERA NEBULOSA SUNDA (*Neofelis diardi*) Y GATO
LEOPARDO (*Prionailurus bengalensis*)"**



TESIS DOCTORAL

FERNANDO NAJERA MUÑOZ

LUIS REVUELTA RUEDA, Doctor en Biología, Profesor Contratado Doctor del Departamento de Fisiología (Fisiología Animal) e **IGNACIO DE GASPAR SIMON**, Doctor en Veterinaria, Profesor Titular del Departamento de Anatomía de la Facultad de Veterinaria de Madrid, UCM.

INFORMAN:

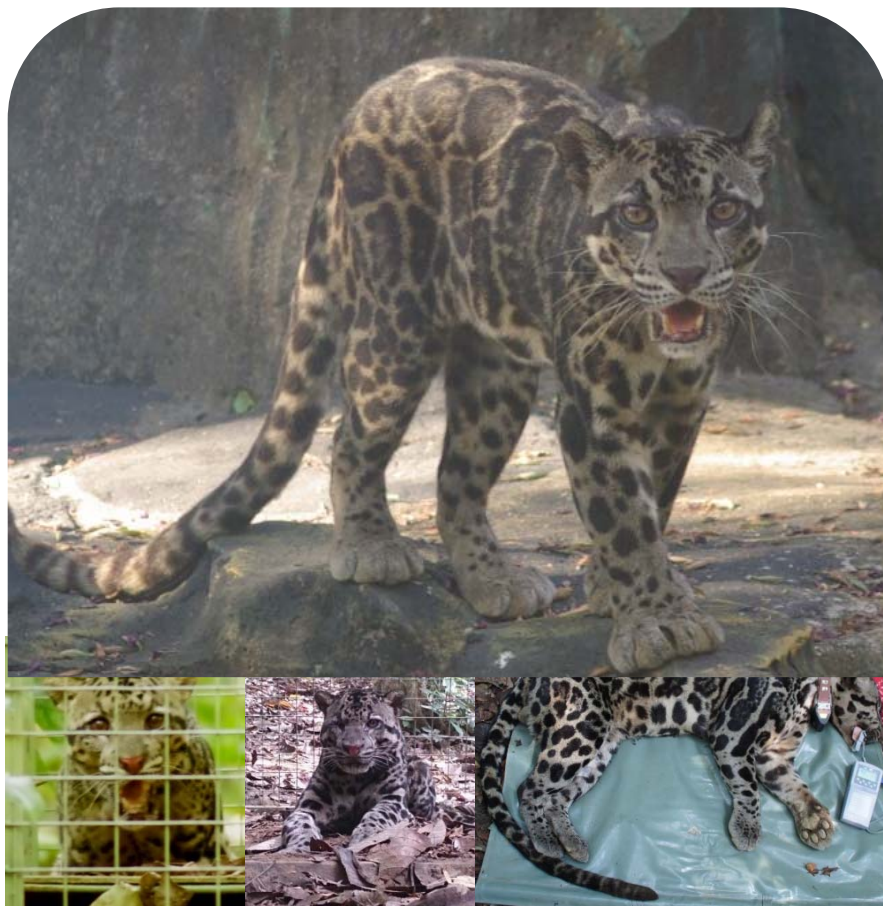
Que la Tesis Doctoral titulada “VALORACIÓN CLÍNICA DE FELINOS DE BORNEO EN PROGRAMAS DE CONSERVACIÓN: PANTERA NEBULOSA SUNDA (*Neofelis diardi*) Y GATO LEOPARDO (*Prionailurus bengalensis*)”, de la que es autor **D. FERNANDO NÁJERA MUÑOZ**, ha sido realizada bajo nuestra dirección y cumple las condiciones legales exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Madrid, 2 de Noviembre de 2015

Fdo.: LUIS REVUELTA RUEDA

Fdo.: IGNACIO DE GASPAR SIMON

**VALORACIÓN CLÍNICA DE FELINOS DE BORNEO EN PROGRAMAS DE
CONSERVACIÓN: PANTERA NEBULOSA SUNDA (*Neofelis diardi*) Y GATO LEOPARDO
(*Prionailurus bengalensis*)**



Agradecimientos

Esta tesis no hubiera sido posible sin la ayuda y apoyo de numerosísimas personas.

En primer lugar quisiera dar las gracias a mis directores de tesis, Luis e Iñaki. A Luis, por creer en mí desde el primer momento que le presenté la idea de este proyecto-tesis. Por todas las horas de apoyo y ayuda, por todo el tiempo que has dedicado a este trabajo con la mejor de las actitudes. Porque siempre has estado ahí, independientemente del país o circunstancia. Siempre estaré en deuda contigo, gracias Luis. A Iñaki, si alguien sabe cómo decirte lo que necesitas escuchar en cada momento, ese es el. Por no ser solo un profesor ejemplar en lo académico, sino también en lo humano. Iñaki, tu ayuda sincera ha marcado la diferencia en este trabajo. Gracias Iñaki.

A todo el personal de Tailandia, desde mis supervisores americanos (gracias Janine por demostrar a todos que se puede ser un investigador de otra galaxia siendo humilde), mis colegas tailandeses Dres. Visit y Dao, y Pi Ding que me aceptaron a la primera y me hicieron sentir como en casa. También a los cuidadores tailandeses Yok, Doh, Arun, con los que compartí millones de horas con las panteras, porque son los mejores cuidadores de todo el Sudeste Asiático y que confiaron en mí desde los inicios. Al personal técnico tailandés, especialmente Nok y Nui, con los que compartí risas, llantos y alegrías. Gracias por todos los momentos, con y sin panteras.

A todo el personal investigador de Wildlife Conservation Research Unit (WildCRU) de Borneo. Andy, tu mereces una mención aparte. Desde el año 2008 me has hecho el tío más feliz del mundo al confiar en mí para llevar a cabo los aspectos veterinarios de tu programa insitu. Por todos esos momentos (momentazos diría yo) en Sabah, porque trabajar con alguien que siempre está de buen humor y sin perder un ápice de profesionalidad, no tiene precio. Andy, ya te lo he dicho mil veces, no tengo palabras para agradecerte todo lo que me has ofrecido y ayudado para conseguir este sueño.

Gracias a Jo. Por ayudarme a sentirme tan bien acogido durante mis primeros momentos en Danum Valley. Gracias por confiar en mí.

Agradecer también a los trackers de Danum y Kinabatangan su esfuerzo sobrehumano cuando tocaba colocar trampas.

Gracias al personal técnico del Departamento de Vida Salvaje de Sabah, especialmente al Dr. Sen y a la Dra. Diana, por dejarme disfrutar como veterinario de toda la fauna salvaje de Sabah con la que he trabajado a lo largo de los años.

Gracias a Ben y Milena, por todo el esfuerzo logístico que llevasteis a cabo para que yo pudiera realizar mi investigación en Kinabatangan. Gracias a todo el personal de Danau Girang Field Centre, desde las cocineras hasta los guías.

Gracias también a Glenn Reynolds por su ayuda logística desinteresada cuando estuve trabajando en Danum Valley.

Si hay otro investigador con el que he compartido alegrías y esfuerzo durante las capturas, ese es Roshan. Gracias por ser como eres, más bueno que un pan y con un corazón que rebosa amabilidad.

A todos los voluntarios que pasaron por nosotros durante nuestro maravilloso tiempo en Sabah, especialmente Sunil, Barbara, Kyle, por todo su tiempo y trabajo en todos los aspectos del duro y cansino trabajo de campo.

Gracias al personal técnico de los laboratorios, que aunque nos hicieron sufrir un poco más de la cuenta durante alguna de las fases del proyecto, su ayuda fue invaluable.

Gracias al personal técnico de Indonesia, especialmente a los Dres. Bakthi y Ucha. Gracias por abrirme las puertas de Java y hacerme sentir como uno más del equipo desde el primer instante. Muchas gracias también a Mr. Rio, que sin su ayuda logística, mi muestreo en Java no hubiera sido posible. A Enrique por su ayuda logística con parte del material veterinario. Gracias amigo. Que suerte tengo de contar contigo. A todas las personas involucradas en la estadística de esta tesis (colegas y amigos): Prof. Rafael Cediel y doctores: Eva, Laurie, Shuown. Gracias por vuestro valioso tiempo y ayuda desinteresada.

A todas las fundaciones que han donado fondos para este Proyecto: Sime Darby Foundation, Robertson Foundation, Panthera, Point Defiance Zoo, Houston Zoo, Zoo Atlanta, Rufford Foundation e Idea Wild.

A nivel personal esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo sentimental de toda mi familia. Que estar lejos de un hogar que te ha mimado siempre ha sido lo más difícil de vivir todos estos años. Gracias papa, porque eres un crack, por tu carisma, por creer en mí en todas las decisiones que he tomado. Si de alguien he aprendido a trabajar como el que más, es de mi padre. Ejemplo a seguir en todos los sentidos. Tu ayuda papa ha sido fundamental para llegar aquí. Mama, porque simplemente eres la mejor. Que llamar todos los días (independientemente de donde me encuentro, jungla o ciudad) para saber cómo estoy no tiene precio. Porque sabes escuchar como nadie, porque me has apoyado toda mi vida para conseguir todo lo que me he propuesto. Ejemplo de madre y de persona. A mi hermana Nati por ser una luchadora incansable que me ha transmitido ser un trabajador desde pequeño. A mi hermanita pequeña Marta, por todos los momentos que hemos compartido y que nos quedan por compartir, por esas lágrimas de alegría, por tu empatía conmigo en todas las situaciones que vivo. Sois las mejores hermanas que uno puede tener. A mi tía Paqui por ser como es conmigo. A mi tío David, por su interés en lo que hago.

Mi gratitud más especial es para quien me ha soportado todos estos años en lo bueno y lo no tan bueno. Estando cerca y estando lejos. Que vivir con poco y ser feliz es muy difícil y nosotros lo hemos hecho. Gracias Krystle. Porque me has ayudado en lo personal y en lo profesional. Eres una joya. Sin ti esta tesis no existiría.

Y como no podía ser de otra manera, quiero dar mis más sinceras gracias a ellas, a las panteras. Que me han hecho vivir los mejores momentos de mi vida como veterinario.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. Problemas de conservación de los felinos del Borneo malayo	16
1.2. El papel del veterinario en programas de conservación	18
1.3. Familia <i>Felidae</i> . Revisión taxonómica de las especies de felinos	19
1.3.1. Felinos del Borneo Malayo	22
1.4. Distribución y hábitat de felinos salvajes en Sabah	28
1.4.1. Áreas de conservación <i>in-situ</i>	28
1.5. Programas de conservación <i>ex-situ</i> . Cría en cautividad de panteras nebulosas	31
1.6. Métodos de captura para felinos salvajes: métodos físicos	37
1.7. Métodos de captura para felinos salvajes: métodos químicos	42
1.7.1. Ciclohexanos	44
1.7.2. Agonistas α -2	47
1.7.3. Benzodiacepinas	51
1.7.4. Antídotos	53
1.7.5. Combinaciones anestésicas	56
1.8. Hematología y bioquímica sérica en felinos salvajes de Borneo	60
1.9. Respuesta de estrés durante captura y manejo. Efectos sobre la hematología y bioquímica sérica	65
2. OBJETIVOS	75
3. MATERIAL Y MÉTODOS	77
3.1. Programas de conservación <i>in-situ</i>	78
Captura con cajas-trampa	81
Animales capturados <i>in-situ</i>	86
Fármacos empleados en la anestesia	87
Monitorización anestésica	88
Obtención y procesado de muestras sanguíneas	91
3.2. Programas de conservación <i>ex-situ</i>	93
3.3. Métodos estadísticos	96

4. RESULTADOS	99
4.1. Captura de panteras nebulosas Sunda y gatos leopardo de Borneo mediante jaula-trampa	100
4.2. Anestesia de panteras nebulosas Sunda	101
4.3. Anestesia de gatos leopardo de Borneo	108
4.4. Hematología y bioquímica sérica en panteras nebulosas Sunda	114
4.5. Hematología y bioquímica sérica en gatos leopardo de Borneo	117
4.6. Masa corporal de cachorros de panteras nebulosas criadas en cautividad	119
5. DISCUSIÓN	123
5.1. Captura de panteras nebulosas Sunda y gatos leopardo mediante el uso de jaulas-trampa	124
5.2. Anestesia de panteras nebulosas Sunda	127
5.3. Anestesia de gatos leopardo de Borneo	134
5.4. Hematología y bioquímica sérica en panteras nebulosas Sunda	138
5.5. Hematología y bioquímica sérica en gatos leopardo de Borneo	145
5.6. Dinámica de la masa corporal en cachorros de pantera nebulosa	149
6. CONCLUSIONES	152
7. RESUMEN	156
8. SUMMARY	161
9. BIBLIOGRAFÍA	164

ACRÓNIMOS

ALT	Alanine Aminotransferase. Alanino aminotransferasa
AST	Aspartate Aminotransferase. Aspartato aminotransferasa
CBSG	Captive Breeding Specialist Group. Grupo especialista de cría en cautividad
CCB	Carcasa de cerdo barbudo
CHCM	Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media
CK	Creatine Kinase. Creatina quinasa
CP	Carcasa de pollo
DE	Desviación estándar
DELEC	Dispositivo electrónico
DVCA	Danum Valley Conservation Área. Área de Conservación de Danum Valley
EDTA	Ethylene Diamine Tetracetic Acid. Ácido etilén diamino tetracético
EC	Éxito de Captura
EEUU	Estados Unidos
FA	Fosfatasa Alcalina
GABA	Gamma Aminobutyric Acid. Ácido Gamma Amino Butírico
GGT	Gamma-Glutamyl Transpetidase. Gamma glutamil transpeptidasa
GI	Gastrointestinal
GV	Gallina viva
HCM	Hemoglobina Corpuscular Media
HDL	High-Density Lipoprotein. Lipoproteína de alta densidad
IFCCLM	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio
ISIS	International Species Information System. Sistema de información internacional de especies
IUCN	International Union for Conservation of Nature. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza
JG1	Jaula trampa grande de 1 guillotina
JG2	Jaula trampa grande de 2 guillotinas
JP	Jaula pequeña
KKOZ	Khao Kheow Open Zoo. Zoo abierto de Khao Kheow
KMR	Kitten Milk Replacer. Leche de reemplazo para gatitos
LDH	Lactic Acid Dehydrogenase. Lactato deshidrogenasa
LDL	Low-density Lipoprotein. Lipoproteína de baja densidad
LKWC	Lok Kawi Wildlife Center. Centro de vida salvaje de Lok Kawi
LKWS	Lower Kinabatangan Wildlife Sanctuary. Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo
MWS	Matang Wildlife Sanctuary. Santuario de vida salvaje de Matang
MZG	Maharani Zoo and Goa. Zoológico y jardín de Maharani
NMDA	N-methyl-D-aspartate. N-metil-D-aspartato
O	Orina
PDZA	Point Defiance Zoo and Aquarium. Zoo y Acuario de Point Defiance
RV	Rata viva
SCBI	Smithsonian Conservation Biology Institute. Instituto de Biología de la Conservación Smithsonian.
SNC	Sistema Nervioso Central
SSP	Species Survival Plan. Plan de Supervivencia de Especies
TC	Tasa de Captura
USFR	Ulu Segama Forest Reserve. Reserva Forestal de Ulu Segama

UV
VCM

Ultra violeta
Volumen Corpuscular Medio

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problemas de conservación de los felinos del Borneo malayo

La jungla de Borneo es hábitat de cinco especies de felinos salvajes: pantera nebulosa Sunda o Sundaland (*Neofelis diardi*), gato jaspeado (*Pardofelis marmorata*), gato rojo de Borneo (*Pardofelis badia*), gato de cabeza plana (*Prionailurus planiceps*) y gato leopardo (*Prionailurus bengalensis*). Dos de ellos están considerados como *Vulnerables* por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (International Union for Conservation of Nature, IUCN) (pantera nebulosa Sunda y gato jaspeado) y otros dos como *En Peligro de Extinción* (gato rojo y gato de cabeza plana) (IUCN, 2009), encontrando su hábitat primario alterado o también convertido o transformado para otros usos (Hearn, 2009).

Las principales amenazas de estos felinos están basadas en la fragmentación y degradación del hábitat debido principalmente al agotamiento de los recursos madereros y a la conversión de la jungla para usos agrícolas (Nowell y Jackson, 1996). Como consecuencia, la jungla de Borneo está sometida a una creciente presión. Mientras que a mediados de los ochenta podíamos encontrar jungla en prácticamente tres cuartas partes de la isla, hoy únicamente el 52% de la isla permanece con jungla (Rautner *et al.*, 2005). La pérdida de hábitat es por lo tanto la principal amenaza de estos carnívoros. La falta o degradación de hábitat ya ha sido objeto de estudio en otras especies de felinos, siendo considerada la mayor amenaza para su conservación en especies como el lince ibérico (Ferrerías *et al.*, 2010), la pantera de Florida (Kautz *et al.*, 2006), el guepardo (IUCN/SCC 2007a, b, c) o el tigre de Amur (Ma, 2005).

El comercio ilegal de felinos o de sus partes también es una causa de la disminución en las poblaciones de estas especies (Damania *et al.*, 2008). En Borneo y debido a la rareza del gato rojo, sí existen citas referentes a la captura de esta especie por cazadores furtivos o comerciantes de fauna salvaje para su posterior venta (Sunquist y Sunquist 2002; Kitchener *et al.*, 2004; Azlan y Sanderson, 2007).

Las panteras nebulosas del continente asiático (*Neofelis nebulosa*) están expuestas al comercio ilegal por su piel (figura 1) o para ser vendidas vivas como mascotas. Entre los países involucrados en este negocio se encuentran China, Nepal, India o Tailandia (Sunquist y Sunquist, 2002). No existen en la actualidad referencias bibliográficas en cuanto a esta práctica con las especies de felinos en Borneo, aunque no se puede descartar puesto que en Sarawak, las tribus originarias utilizan la piel de las panteras como parte de su folklore (Hearn, comunicación personal).



Figura 1. Piel de pantera nebulosa (*Neofelis nebulosa*) encontrada en Khao Ang Rue Nai Wildlife Sanctuary (Tailandia).

En Sumatra se tiene constancia de que las panteras nebulosas Sunda sufren la persecución y envenenamiento por parte del hombre, ya sea para vender su piel o para proteger a sus ganados o gallineros del ataque de los felinos (Santiapillai y Ashby, 1988; Santiapillai, 1989).

Aunque el descenso de determinadas poblaciones de carnívoros silvestres ha sido atribuido a la persecución deliberada por parte del hombre (Woodroffe, 2001), esta amenaza no se puede referir a la totalidad de especies de felinos de Borneo ya que faltan estudios que prueben su implicación en la conservación de estos carnívoros. Aunque no existen referencias de la persecución de las panteras nebulosas en Sabah (Borneo), durante nuestro estudio pudimos recuperar una carcasa de pantera nebulosa Sunda que había sido disparada (figura 2).



Figura 2. Macho de pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*) hallada muerta por disparos.

Otras posibles amenazas para los carnívoros malayos es la caza furtiva de sus presas (Hearn, 2009). Esto puede representar una seria amenaza para la supervivencia de felinos como ha sido demostrado en otros estudios (Sanderson *et al.*, 2002; Zeller, 2007).

Entre otras amenazas descritas para felinos silvestres encontramos el conflicto humano-félido, ya definido para otras poblaciones de carnívoros como el jaguar (Sanderson *et al.*, 2002), la pantera Florida (Onorato *et al.*, 2010), el puma (Cramer, 2007), la pantera de las nieves (Oli *et al.*, 1994), el guepardo (Marker *et al.*, 2003; Maddox, 2003; Dickman, 2005) o el león africano (Loveridge *et al.*, 2010), aunque sin base científica para describirlo en los felinos del Borneo malayo.

Se ha comprobado en otros felinos que la falta de interacción humana junto con la abundancia de presas y un óptimo hábitat constituyen un seguro de vida para la conservación de carnívoros amenazados (Harmsen *et al.*, 2010).

Los factores que se consideran críticos para la distribución y abundancia de grandes felinos son: 1) la distribución y abundancia de presas y 2) mortalidad y pérdida de hábitat por el hombre (Woodroffe, 2000; Carbone y Gittleman, 2002; Dinerstein *et al.*, 2007; Hayward *et al.*, 2007).

Aunque de los felinos de Borneo, solo podemos considerar a la pantera nebulosa Sunda como felino de tamaño medio (Sunquist y Sunquist 2002), podemos valorar todos o parte de estos factores como amenazas en la conservación de esta especie.

Finalmente, es necesario destacar el papel de determinados patógenos que pueden afectar a poblaciones de felinos silvestres amenazados. En 1994 una epidemia del virus de moquillo canino exterminó a cientos de leones (*Panthera leo*) y otros carnívoros en el Serengeti (Roelke-Parker *et al.*, 1996) y en 2007 el virus de la leucemia felina apareció en una subpoblación de lince ibérico en el Parque nacional de Doñana, matando a casi una decena de individuos de este felino críticamente amenazado de extinción (López *et al.*, 2009). Aunque en los felinos de Borneo no se han descrito epidemias como las expuestas anteriormente, en el año 2011 en el estado de Sarawak, un gato de cabeza plana tras ser atrapado en una aldea murió como consecuencia del virus de la panleucopenia felina (Tisen y Azlan, 2013). Para saber el alcance de estos patógenos en felinos silvestres de Borneo es necesario realizar un plan de vigilancia epidemiológica, teniendo en cuenta qué porcentajes de morbilidad y mortalidad afectan a individuos más que a poblaciones puesto que antes de iniciar medidas correctoras hay que determinar si la enfermedad supone una verdadera amenaza para las poblaciones de felinos silvestres (Munson *et al.*, 2010).

Todas las amenazas expuestas anteriormente se ven drásticamente potenciadas por la falta de conocimiento científico que existe sobre estas especies. De hecho, el gato de cabeza plana y el endémico gato rojo son, indiscutiblemente, dos de las especies de felinos menos conocidas del mundo y pocas referencias se encuentran en la literatura referidas a las otras especies de Borneo (Sunquist y Sunquist, 2002, Wilting *et al.*, 2010). Conociendo y entendiendo la fisiopatología de estos carnívoros se facilita el desarrollo de unas medidas efectivas de manejo veterinario para los programas de conservación de estas especies.

1.2. El papel del veterinario en programas de conservación.

Actualmente el ritmo de extinción de especies está considerando de ser entre 100 y 1000 veces más rápido de lo que ha sido calificado como “normal” o natural en el pasado (Pimm *et al.*, 1995). Este ritmo de extinción tan elevado, denominado como “sexta extinción” (Leakey y Lewin, 1996) está relacionado con alguna actividad o cambio antropogénico como la degradación y fragmentación de hábitats, el aislamiento de especies o un mayor contacto entre fauna salvaje, animales domésticos y personas (Deem, 2007).

Tradicionalmente el veterinario no ha sido reconocido como una parte esencial en programas de conservación probablemente debido a que su papel estaba prácticamente limitado al cuidado de la salud y bienestar de especies *ex-situ*, como por ejemplo en zoológicos. Hoy en día la comunidad científica conservacionista destaca la relevancia de los veterinarios en programas de conservación de especies *in-situ*, que tienen como objetivo el mantenimiento de poblaciones de animales salvajes saludables y viables (Boyce *et al.*, 1992; Deem, 2007). Este reconocimiento puede ser debido en parte a que los veterinarios pueden desarrollar una importante labor en la lucha contra alguno de los factores más significativos que amenazan la supervivencia de las especies y que están relacionados con la salud de los individuos como la exposición a agentes infecciosos exóticos, la exposición a sustancias tóxicas, las enfermedades causadas por estrés fisiológico, nutricional o de comportamiento o la inmunidad reducida para luchar contra enfermedades endémicas (Hutchins *et al.*, 1991).

El grado de implicación del veterinario en programas de conservación *in-situ* dependerá de diversos componentes tales como el estado de conservación de la especie o de la población afectada, el origen del problema de salud en los individuos que requiere de investigación veterinaria, la distribución espacial de la especie, el coste de las medidas de tratamiento o de prevención necesarios, las enfermedades específicas que puedan suponer una amenaza para dicha especie o las consecuencias derivadas de la intervención veterinaria sobre la salud de otras especies, incluyendo personas y animales domésticos (Deem *et al.*, 2001; Deem, 2007).

Entre las actividades relacionadas con la conservación y consideradas como prioritarias para un futuro en las que el veterinario puede contribuir eficientemente, destacan la investigación, las actividades relacionadas con la legislación, el manejo ecológico y sostenible, las actividades educativas y las recomendaciones para el manejo de especies *ex-situ* (Mainka, 2001).

1.3. Familia *Felidae*. Revisión taxonómica de las especies de felinos.

Existen 37 especies de felinos incluidas en la familia *Felidae*. Encontramos felinos distribuidos por todo el mundo a excepción de Australia y de la Antártica, con gran variabilidad morfológica y con una variación del peso corporal entre 1.5 kg hasta 300 kg.

Las 37 especies de felinos (tabla 1) se agrupan en varios géneros, siendo esta clasificación objeto de debate entre taxonomistas (Wack, 2003). La lista de géneros que se incluyen en la tabla 1 corresponde a McDonald *et al.*, (2010), siguiendo la línea de trabajos de Johnson *et al.*, 2006, cuya clasificación está basada en análisis de ADN mitocondrial y nuclear.

Subfamilia	Género	Especie	Nombre común
Pantherinae	<i>Panthera</i>	<i>Panthera leo</i>	León
		<i>Panthera tigris</i>	Tigre
		<i>Panthera pardus</i>	Leopardo
		<i>Panthera onca</i>	Jaguar
		<i>Panthera uncia</i>	Leopardo de las nieves
	<i>Neofelis</i>	<i>Neofelis nebulose</i>	Pantera nebulosa
		<i>Neofelis diardi</i>	Pantera nebulosa Sunda ¹
Felinae	<i>Pardofelis</i>	<i>Pardofelis badia</i>	Gato rojo de Borneo ^{1,2}
		<i>Pardofelis marmorata</i>	Gato jaspeado ¹
		<i>Pardofelis temminckii</i>	Gato dorado asiático
	<i>Caracal</i>	<i>Caracal caracal</i>	Caracal
		<i>Caracal aurata</i>	Gato dorado africano
	<i>Leptailurus</i>	<i>Leptailurus serval</i>	Serval
	<i>Leopardus</i>	<i>Leopardus pardalis</i>	Ocelote
		<i>Leopardus wiedii</i>	Margay
		<i>Leopardus tigrinus</i>	Tigrillo
		<i>Leopardus geoffroyi</i>	Gato de Geoffroy
		<i>Leopardus guigna</i>	Kodkod
		<i>Leopardus colocolo</i>	Gato de la Pampa
		<i>Leopardus jacobita</i>	Gato andino
	<i>Lynx</i>	<i>Lynx rufus</i>	Lince rojo
		<i>Lynx canadiensis</i>	Lince de Canadá
		<i>Lynx lynx</i>	Lince boreal
		<i>Lynx pardinus</i>	Lince ibérico
	<i>Puma</i>	<i>Puma concolor</i>	Puma
		<i>Puma yaguarondi</i>	Yaguarondi
	<i>Acinonyx</i>	<i>Acinonyx jubatus</i>	Guepardo
	<i>Prionailurus</i>	<i>Prionailurus bengalensis</i>	Gato leopardo/bengalí ¹
		<i>Prionailurus viverrinus</i>	Gato pescador
		<i>Prionailurus planiceps</i>	Gato de cabeza plana ¹
		<i>Prionailurus rubiginosa</i>	Gato rojo manchado
	<i>Otocolobus</i>	<i>Otocolobus manul</i>	Gato de Pallas
	<i>Felis</i>	<i>Felis chaus</i>	Gato de la jungla
		<i>Felis margarita</i>	Gato del desierto
		<i>Felis silvestris</i>	Gato montés
		<i>Felis nigripes</i>	Gato de patas negras

Tabla 1. Especies de felinos salvajes. Adaptado de Macdonald *et al.*, 2010 y Johnson *et al.*, 2006. ¹ Especies de felinos que habitan en Borneo. ² Especies endémicas de Borneo

Los felinos tienen adaptaciones morfológicas únicas dentro del Orden Carnívora. Entre ellas están las garras retractiles en todas las especies a excepción del guepardo (Wack, 2003) aunque para otros autores el guepardo, el serval, el gato de cabeza plana o el gato pescador si tienen el mismo poder para retraer la garras, aunque cada uña no tiene la cubierta protectora que encontramos en otras especies, haciendo que sea posible la visualización de las garras incluso cuando están en reposo (Sunquist y Sunquist, 2002; McDonald *et al.*, 2010). La dentadura presenta entre 28-30 dientes según las especies. Este bajo número en la dentición, comparado con canidos o úrsidos, se debe a la disposición anatómica del rostro, con caras más redondeadas y cortas que otros carnívoros. De la dentición, destacamos los caninos, largos, diseñados para dar el mordisco con el que matan a sus presas. Premolares y molares están especializados para cortar y triturar la carne. La función de los incisivos esta en agarrar y partir (Sunquist y Sunquist, 2002), aunque para otros autores, los incisivos de los felinos no están especializados para alguna función concreta (Wack, 2003).

Entre las especies pertenecientes al género *Panthera*, encontramos que el aparato hioideo no está osificado completamente, lo que permite a estas especies rugir, frente a las especies del genero *Felis*, que debido a la osificación de su aparato hioideo son incapaces de emitir este sonido (Wack, 2003). Aunque esta teoría ha sido una pieza clave utilizada para diferenciar felinos de la subfamilia *Pantherinae* (felinos grandes) de aquellos pertenecientes a la subfamilia *Felinae* (felinos pequeños), teorías más recientes indican que la mayor diferencia entre ambos linajes radica en que los felinos grandes capaces de rugir presentan cuerdas vocales largas, carnosas y elásticas dentro de la laringe que resuenan para producir el rugido, mientras que los felinos más pequeños y también guepardos tienen cuerdas vocales más simples que les permiten ronronear (Sunquist y Sunquist, 2009).

1.3.1. Felinos del Borneo Malayo

Pantera nebulosa Sundaland o Sunda (*Neofelis diardi*).

De entre las especies que habitan el Borneo malayo, la pantera nebulosa Sundaland o Sunda es la de mayor tamaño. La pantera nebulosa Sunda fue considerada subespecie de la pantera nebulosa del continente asiático hasta el año 2006 cuando estudios genéticos y morfológicos demostraron que ambas especies son suficientemente diferentes como para ser consideradas la misma especie (McDonald *et al.*, 2010). Recientemente ambas especies se incluyen dentro de la subfamilia *Phantherinae* y a pesar de su tamaño, son consideradas como “gatos grandes” o “pequeñas-gran panteras”, precisamente porque comparten ciertas similitudes anatómicas con el resto de miembros del género *Panthera* (Sunquist y Sunquist, 2002; McDonald *et al.*, 2010). Las especies del género *Panthera* no pueden ronronear porque parte del aparato hioideo (concretamente el hueso epihioides) está conectado por ligamento elástico en vez de hueso (Weissengruber *et al.*, 2002). Curiosamente, otras especies de felinos de mayor tamaño que las panteras nebulosas (como pumas o guepardos) no son consideradas como “gatos grandes” debido a estas diferencias en el aparato hioideo. Actualmente esta teoría está en discusión (Sunquist y Sunquist, 2009).

En el género *Neofelis* encontramos ciertas diferencias solo apreciables en estas especies. Los caninos (o colmillos) de las especies pertenecientes a este género son considerados como los más largos en comparación con el cráneo dentro de todas las especies de félidos que existen en la actualidad (Figura 3) (Sunquist y Sunquist, 2002; Christiansen, 2006). Los caninos de estas especies pueden llegar a medir 4.5 cm (Guggisberg, 1975).



Figura 3. Detalle del cráneo y caninos recuperados de un ejemplar de *Neofelis diardi* hembra muerta por atropello. Se puede observar el gran tamaño de los caninos en comparación con el cráneo.

Macroscópicamente encontramos diferencias en el pelaje entre ambas especies, mientras que en la pantera nebulosa continental, las características rosetas en forma de nube (por las que recibe su nombre) son más grandes, en la pantera nebulosa Sunda son más pequeñas (Kitchener *et al.*, 2006). El pelaje de esta última es más oscuro que el pelaje de la pantera nebulosa continental (figura 4).



Figura 4. Comparación del pelaje entre pantera nebulosa continental (izquierda) y pantera nebulosa Sunda (derecha).

La pantera nebulosa Sunda habita en Borneo y Sumatra, aunque ambas poblaciones son reconocidas como subespecies debido a análisis de ADN mitocondrial (Wilting *et al.*, 2007). De este modo, en la isla de Borneo la subespecie que encontramos es denominada *Neofelis diardi borneensis*, mientras que en Sumatra encontramos la subespecie *Neofelis diardi diardi* (Wilting *et al.*, 2007).

Otra de las características que solo comparten las especies del género *Neofelis*, además de con otros felinos como el margay y el gato jaspeado, es su adaptación a la vida arbórea. Las panteras nebulosas disponen de rabos largos que pueden llegar a medir hasta un metro de longitud. La agilidad entre árboles de esta especie es solo comparable con la de margays y gatos jaspeados, ya que también son capaces de bajar de los árboles con la cabeza primero (Figura 5), o mantenerse colgadas de ramas de árboles usando solo sus extremidades posteriores (Sunquist y Sunquist, 2002).

Si bien morfológicamente se han adaptado para la vida en los árboles, recientes estudios demuestran que las panteras nebulosas de Borneo utilizan más el suelo para sus desplazamientos (Holden, 2001; Gordon y Stewart, 2007). Rabinowitz *et al.* (1987) han sugerido que las panteras nebulosas en Borneo son menos arbóreas que en Sumatra debido a que en esta isla las panteras comparten hábitat con otros grandes depredadores, como el tigre de Sumatra.



Figura 5. Macho de *Neofelis nebulosa* bajando de un árbol.

A diferencia de Sumatra, en Borneo las poblaciones de panteras nebulosas se presentan con mayores densidades, variando desde los 6.4 individuos adultos/100 km² (IUCN, 2008) hasta los 9 individuos adultos/100 km² (Wilting *et al.*, 2006).

Los pesos de los individuos adultos (machos y hembras) se encuentran entre los 11 y 20 kg., con una longitud corporal entre 60-100 cm. (Macdonald, 2001).

Poco se conoce de la dieta de las panteras nebulosas en la naturaleza. Entre las presas atribuidas a ambas especies del género *Neofelis* se encuentran el cerdo barbudo (*Sus barbatus*), ciervo sambar (*Cervus unicolor*), ciervo-ratón (*Tragulus spp*) (Rabinowitz *et al.*, 1987), ciervo ladrador o muntiac (*Muntiacus muntjak*), puercoespín (*Hystrix hodgsoni*), macacos (*Macaca spp*), ciervo cerdo (*Axis porcinus*) o pangolín malayo (*Manis javanica*) (Sunquist y Sunquist, 2002; Grassman *et al.*, 2005b).

La pantera nebulosa Sunda está considerada como *Vulnerable* por la IUCN y *En Peligro* a nivel de subespecies (IUCN, 2008). Las panteras nebulosas disfrutan de protección legal en las áreas protegidas de todo el Sudeste Asiático, y aunque su caza está prohibida, todavía es posible encontrar pieles y otras partes en mercados ilegales (Nowel y Jackson, 1996; Fazio, 2010).

Gato rojo de Borneo (*Pardofelis badia*).

Si hay una especie en Borneo que resalta por su rareza es sin duda el gato rojo de Borneo, siendo considerado el felino menos conocido del mundo (Sunquist y Sunquist, 2002). Incluso en entrevistas realizadas en aldeas de las áreas de Sabah y Sarawak, donde se preguntaba a la gente si reconocían las diferentes especies de felinos por fotografía, no hubo nadie que reconociera al gato rojo, mientras que el resto de especies si fueron bien reconocidas (Nowell y Jackson, 1996).

Lo poco que se conoce de este felino procede de 12 individuos capturados. De los análisis moleculares practicados en el último ejemplar capturado en 1992 y comparándolo con un espécimen disecado del Museo Británico, se dedujo que el gato rojo es una especie *per se* y no una subespecie del gato dorado asiático (*Pardofelis temminckii*) como se creía en un principio (Sunquist y Sunquist, 2002).

De la información obtenida del estudio de este felino con cámaras trampa, se conoce que tiene tanto hábitos diurnos como nocturnos (Azlan *et al.*, 2003; Hearn y Bricknell 2003; Dinets, 2003; Meijaard *et al.*, 2005; Yasuda *et al.*, 2007), que habita en bosques altos y bajos, en pantanos (Azlan *et al.*, 2003; Hearn y Bricknell, 2003; Azlan y Sanderson 2007; Yasuda *et al.*, 2007) y en bosques secundarios o regenerados (Nowell y Jackson 1996; Hearn y Bricknell, 2003; Kitchener *et al.*, 2004; Meijaard *et al.*, 2005).

Sus hábitos alimenticios son desconocidos. Sus medidas corporales varían entre los 62-67 cm en machos (n=2) (Sunquist y Sunquist, 2002), y 45,2-59,1 cm en hembras (n= 3) (Kitchener *et al.*, 2004). Del peso solo se conoce el de las hembras de una muestra de 2 individuos, variando entre 2.39-2.5 kg. (Kitchener *et al.*, 2004).

El gato rojo de Borneo está catalogado *En Peligro de Extinción* por la IUCN (2008).

Gato jaspeado (*Pardofelis marmorata*).

La otra especie del Sudeste Asiático que junto con la pantera nebulosa está adaptada a la vida arbórea, es el gato jaspeado. Esta especie recuerda a una pantera nebulosa pequeña, debido a su patrón de manchas y a su rabo largo (equivalente a la longitud de cabeza y cuerpo). La diferencia en tamaños entre estas dos especies es notable, puesto que los gatos jaspeados no superan los 4 kg. (Sunquist y Sunquist, 2002). Dichas similitudes en ambas especies no son apoyadas por estudios genéticos y son clasificadas en dos géneros diferentes (Johnson *et al.*, 2006).

El gato jaspeado habita en diferentes países del Asia continental y parece ser una especie rara en Borneo (Nowell y Jackson, 1996; Duckworth *et al.*, 1999; Holden, 2001; Sunquist y Sunquist, 2002; Grassman *et al.*, 2005b; Lynam *et al.*, 2006; Yasuda *et al.*, 2007). En el continente asiático se localiza en bosques tropicales húmedos (Nowell y Jackson 1996), y puede preferir bosques de altura (Duckworth *et al.*, 1999; Holden, 2001; Grassman *et al.*, 2005). De su patrón de actividad recogida por cámaras trampa, se deduce que es una especie de hábitos diurnos (Duckworth *et al.*, 1999; Grassman y Tewes, 2002). Su dieta parece estar basada en roedores y pájaros (Macdonald *et al.*, 2010).

Esta especie está catalogada como *Vulnerable* por la IUCN (2008).

Gato de cabeza plana (*Prionailurus planiceps*).

El gato de cabeza plana es considerado como una de las dos especies de felinos piscívoros en la familia *Felidae*. La otra especie es el gato pescador (*Prionailurus viverrinus*) y no habita en Borneo. Su dieta está basada en peces, pero también pájaros y pequeños roedores (Macdonald *et al.*, 2010).

Morfológicamente destaca su cráneo aplanado (de ahí su nombre), ojos de gran tamaño, orejas pequeñas y membranas interdigitales (Macdonald *et al.*, 2010). Las garras están parcialmente expuestas al carecer de cubierta protectora.

Es de pequeño tamaño, no sobrepasando los 4 kg. en cautividad (Tongthainan, comunicación personal), aunque otras referencias citan que estos felinos no llegan a superar los 2.5 kg. (Sunquist y Sunquist, 2002).

El gato de cabeza plana es nocturno y habita principalmente en bosques de ribera, áreas pantanosas y lagos (Nowell y Jackson, 1996) aunque también se ha podido observar en otros hábitats como bosques talados (Bezuijen, 2000; Meijaard *et al.*, 2005).

El gato de cabeza plana está catalogado como *En peligro de extinción* por la IUCN (2008).

Gato leopardo de Borneo (*Prionailurus bengalensis borneoensis*)

Si hay una especie de felino en Borneo al que parece no afectar la conversión del suelo para usos agrícolas tales como plantaciones de aceite de palma, es el gato leopardo o gato bengalí. De hecho es la única especie de felino en Borneo considerada como *No amenazada* (IUCN, 2008).

De pequeño tamaño, el rango de pesos se encuentra entre los 2.9 ± 0.38 kg., ($n = 17$) en machos y 2.3 ± 0.27 kg., ($n = 8$) en hembras (Grassman *et al.*, 2005a).

El gato leopardo ha sabido adaptarse a este nuevo hábitat de palmeras debido a que sus principales presas son los roedores (con predilección por los múridos) que abundan en las plantaciones y cuya caza resulta más sencilla en este tipo de hábitat (Rajaratnam *et al.*, 2007). Los gatos leopardo utilizan fragmentos de bosque para descansar o criar (Macdonald *et al.*, 2010). Si bien se han adaptado a esta nueva configuración del suelo, esto no significa que en zonas altamente humanizadas su supervivencia es menor en comparación con zonas protegidas y con menor influencia del hombre (Haines *et al.*, 2004).

Las mayores amenazas para esta especie son la pérdida de hábitat y el comercio ilegal (para piel, para comida o como mascota). Hay que destacar que el gato leopardo puede hibridar con el gato doméstico y aunque a día de hoy no se considera una amenaza (Macdonald *et al.*, 2010) hay que tenerlo en cuenta para un futuro debido al uso habitual que esta especie hace de las plantaciones donde existen asentamientos humanos con una alta presencia de gatos domésticos.

1.4. Distribución y hábitat de felinos salvajes en Sabah (Borneo Malayo). Áreas de conservación *in-situ*.

El hábitat y la distribución de los felinos salvajes de Borneo continúan siendo poco conocidos, aunque se sabe que la pantera nebulosa Sunda se encuentra tanto en bosque primario de dipterocarpos (o bosques vírgenes intactos que no han sido sufrido de la influencia humana) como en bosques comerciales donde se permite la tala controlada (Wilting *et al.*, 2006; Mohamed *et al.*, 2009; Brodie y Giordano, 2012). También se encuentran en bosques pantanosos (Davis, 1962; Cheyne y Macdonald, 2011). Solo de forma anecdótica se ha constatado la presencia de esta especie en zonas de cultivo de palma de aceite (Wilting *et al.*, 2006).

En un estudio realizado por Wilting *et al.* (2006) se detallan seis áreas protegidas de Sabah (Tabin y Kulamba Wildlife Reserve, Danum Valley Forest Reserve, Maliau Basin Forest Reserve, Tawau Hill & Ulu Kalumpang Forest Reserve, Crocker Range National Park y Kinabatangan Wildlife Sanctuary) además de veinte reservas forestales donde fueron localizadas panteras nebulosas Sunda.

El gato leopardo es el felino más ampliamente distribuido en Borneo. Es posible encontrar esta especie tanto en bosque primario como en secundario (bosques regenerados sobre un bosque destruido previamente por acción del hombre), así como en zonas destinadas al cultivo de aceite de palma (Santiapillai y Suprahman, 1985). En un reciente estudio realizado por Ross *et al.* (2010) en diferentes áreas del Borneo Malayo (Danum Valley Conservation Area, Palum Tambun Watershed Reserve, Ulu Segama Forest Reserve, Malua Forest Reserve, Tabin Wildlife Reserve y finalmente una zona de cultivo del aceite de palma) se registraron un mayor número de individuos en aquellas zonas donde el hábitat había sido degradado o modificado por el hombre, encontrando una mayor presencia de esta especie en la plantación de cultivo de aceite de palma primero, bosque secundario después y bosque primario por último.

El gato de cabeza plana habita mayoritariamente en bosques de ribera y áreas pantanosas, aunque también, en menor medida, se encuentra en bosques primarios y secundarios (Wilting *et al.*, 2010). En Sabah se puede encontrar en Tangkulap y Deramakot Forest Reserve, Palum Tambun Watershed Reserve, Kinabatangan Wildlife Sanctuary, Tabin Wildlife Reserve y Maliau Basin Conservation Area (Wilting *et al.*, 2010).

El gato jaspeado habita en bosque tropical húmedo y también en bosque secundario e incluso áreas pantanosas (Nowell y Jackson, 1996). En Sabah, esta especie habita en Danum Valley Conservation Area, Palum Tambun Watershed Reserve, Ulu Segama Forest Reserve, Malua Forest Reserve, Tabin Wildlife Reserve Deramakot Forest Reserve y Tangkulap Forest Reserve (Mohamed *et al.*, 2009; Mohamed y Wilting, 2009).

Por último, el gato rojo de Borneo es la única especie endémica de esta isla. Diversos estudios de foto trapeo ha revelado la presencia de este endemismo en una gran variedad de hábitats, desde bosques primarios y secundarios de dipterocarpos hasta bosques pantanosos (Mohd-Azlan *et al.*, 2003; Yasuda *et al.*, 2007; Mohamed *et al.*, 2009; Ross *et al.*, 2010; Hon, 2011; Bernard *et al.*, 2012; Brodie y Giordano, 2012). Mohd-Azlan y Sanderson (2007) describen en su estudio la distribución geográfica de esta especie en Sabah, Sarawak, Brunei y Kalimantan utilizando foto trapeo, entrevistas y observaciones de campo.

1.4.1. Áreas de conservación *in-situ*.

Entre los parques nacionales, reservas y santuarios de vida salvaje de Sabah, destacan:

- Área de Conservación de Danum Valley (Danum Valley Conservation Area - DVCA)
- Reserva Forestal de Ulu Segama (Ulu Segama Forest Reserve - USFR)
- Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo (Lower Kinabatangan Wildlife Sanctuary – LKWS)

Área de Conservación de Danum Valley

Esta área de conservación (4° 58' N, 117° 46' E) ocupa un territorio de 438 km² de selva tropical primaria, por lo que es clasificada como Protección Forestal de Clase 1 que le confiere un grado de protección total. Hasta un 88% de los árboles que se encuentran en esta área de conservación son dipterocarpos (Wong *et al.*, 2004). Debido a su clima ecuatorial, Danum Valley es conocido por no presentar estacionalidad, y según datos del centro de campo, presenta una pluviometría anual de 2,825 mm y una temperatura media anual de 26.8°C. No hay asentamientos humanos como pueblos o villas y la única población con construcciones permanentes encontrada dentro de los límites del área de conservación corresponde a las viviendas del personal técnico y de los investigadores del centro de campo de Danum Valley, así como las viviendas del personal de trabajo de un centro de rehabilitación forestal asentado adyacente al área de conservación (Marsh y Greer, 1992).

Danum Valley se encuentra a su vez rodeado de reservas forestales como Ulu Segama Forest Reserve. En esta zona encontramos poblaciones estables de pantera nebulosa Sunda, gato leopardo, gato rojo de Borneo, gato jaspeado y gato de cabeza plana (Brodie y Giordano, 2012).

Ulu Segama Forest Reserve

Ulu Segama Forest Reserve (4° 59' N, 117° 52' E) es una reserva forestal de 2.029 km². El clima en la reserva se ve ligeramente influido por dos monzones (Marsh y Greer, 1992). En esta reserva se ha permitido la extracción controlada de madera entre 1977 y mediados de los 90 (Marsh y Greer, 1992). En 1999 se permitió de nuevo talar, con lo que hay zonas de la reserva que han sido más ampliamente dañadas y de manera más homogénea (Reynolds *et al.*, 2011). A consecuencia de esta tala controlada, en esta reserva se aprecia un mosaico forestal en diferentes estados de regeneración. En este tipo de bosques talados abundan especies de árboles como *Macaranga spp.*, *Mallotus spp.*, *Melastomata*, *Piper* y diversas especies de gengibre (Wong *et al.*, 2004). Desde 1993 aproximadamente 115 km² de esta reserva se han beneficiado de procesos de rehabilitación forestal (Moura-Costa, 1996) Aunque Ulu Segama ha sufrido talas desde hace más de treinta años, es posible encontrar poblaciones saludables de pantera nebulosa Sunda, gato jaspeado o gato leopardo de Borneo (Hearn, comunicación personal).

Lower Kinabatangan Wildlife Sanctuary

En el año 2005, 27.000 hectáreas de bosque altamente fragmentado en la zona del bajo Kinabatangan, se declararon protegidas oficialmente por el gobierno de Sabah bajo la denominación de Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo. El LKWS está formado por diez bloques forestales que incluyen pantanales, ciénagas, bosques parcialmente inundados, bosques de ribera y bosques de dipterocarpos de tierras bajas (Azmi, 1998). Las temperaturas medias mensuales oscilan entre los 21°C – 34°C y con precipitaciones anuales medias de 3,000 mm (Hearn, comunicación personal). Este santuario está sometido a fuertes presiones humanas, ya que la mayoría de las zonas adyacentes al mismo son ocupadas por plantaciones para el cultivo de palma de aceite, además el río Kinabatangan es muy transitado por las poblaciones locales y es utilizado como recurso de pesca y medio de transporte. También se ha constatado la presencia de furtivos en esta área. Aún así, este santuario es muy rico en biodiversidad y mantiene poblaciones estables de primates y elefantes (Lackman-Ancrenaz *et al.*, 2001). Entre las especies de felinos que encontramos en esta área destacan la pantera nebulosa Sunda, el gato de cabeza plana y el gato leopardo (Wilting *et al.*, 2010).

1.5. Programas de conservación *ex-situ*. Cría en cautividad de panteras nebulosas.

En las últimas décadas el número de especies amenazadas y el riesgo de extinción de determinadas especies se han incrementado considerablemente evidenciando la necesidad de desarrollar programas de conservación *in-situ* y *ex-situ* (Baillie *et al.*, 2004). El objetivo de estos programas es incrementar la probabilidad de supervivencia a largo plazo de las poblaciones de fauna salvajes (Ramírez *et al.*, 2006). En el caso de los programas de conservación *ex-situ*, la finalidad es la de crear y manejar poblaciones cautivas de especies para obtener individuos que puedan ser utilizados en programas de reintroducción o que sean utilizados como refuerzo para aquellas poblaciones que se encuentren limitadas en tamaño y genética, evitando de esta manera la extinción de especies amenazadas (Ramírez *et al.*, 2006; Bowkett, 2009). Así, aquellas especies que sufran el riesgo de extinguirse podrán ser mantenidas en cautividad hasta que los factores que amenacen su supervivencia sean eliminados, siendo devueltas de nuevo a la naturaleza (Bowkett, 2009). Otra de las utilidades de estos programas es la que se deriva de la investigación y estudio de los individuos de estas poblaciones cautivas, cuyos resultados se han aplicado en la conservación de las poblaciones salvajes (Wisely, 2003; Russello y Amato, 2007). No solo los programas de conservación *ex-situ* se preocupan de la supervivencia de individuos y sus descendientes, también estos programas se centran en la conservación de la diversidad genética de una especie a largo plazo, puesto que es la diversidad genética la última responsable de la capacidad de adaptación de una especie a los cambios que pueda sufrir su entorno (Frankham *et al.*, 2002).

En los años 90, los programas de conservación *ex-situ* ganaron muchos adeptos entre conservacionistas y público en general y las instituciones zoológicas empezaron a desarrollar su papel en conservación, manteniendo especies amenazadas en cautividad. El papel conservacionista de los zoológicos fue formalizado en la Estrategia de Conservación de Zoos del Mundo (World Zoo Conservation Strategy, 1993), proliferando después las recomendaciones de cría en cautividad para una inmensa variedad de especies mediante las Recomendaciones de Acción de Cautividad Global del Grupo Especialista de Cría en Cautividad de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, CBSG: Captive Breeding Specialist Group) (Bowkett, 2009). Pese a su popularidad, los programas de conservación *ex-situ* solo han evitado la extinción en un número bajo de especies animales, y solo 25 especies se han mantenido en cautividad tras sufrir su extinción en estado salvaje (Magin *et al.*, 1994). De las especies que se han mantenido en programas de cría en cautividad tras extinguirse en la naturaleza y que han podido ser reintroducidas con éxito destacan el ciervo del Padre David (*Elaphurus davidianus*), el bisonte europeo (*Bison bonasus*), el caballo de Przewalskii (*Equus przewalskii*), el órix de Arabia (*Oryx leucoryx*), el turón de patas negras (*Mustela nigripes*) o el cóndor de California (*Gymnogyps californianus*) (Mallinson, 1995).

Pese a la notoriedad y reputación de los programas de conservación *ex-situ* durante la década de los 90, algunos biólogos de la conservación empezaron a cuestionar la utilidad y valía de dichos programas poniendo de manifiesto las limitaciones a las que se enfrentan estos programas de recuperación de especies (Rahbek, 1993; Rabinowitz, 1995; Snyder *et al.*, 1996; Oates, 1999; Bowkett, 2009).

Entre las limitaciones que los programas de cría en cautividad presentan, la formación y mantenimiento de poblaciones auto-sostenibles es una de las más importantes. Conservar la diversidad genética en una población cautiva no es tarea sencilla ya que normalmente estas poblaciones cuentan con un número bajo de ejemplares, lo que se traduce en tamaños pequeños de población efectiva (Hedrick, 2005). De este modo, en una población cualquiera, la fracción de heterocigosidad que se pierde en cada generación como resultado de la deriva genética es $1/(2N_e)$, donde N_e representa el tamaño de población efectiva (Hedrick, 2005; Ramírez *et al.*, 2006). Por lo tanto, para disminuir la pérdida de la diversidad genética, las poblaciones de los programas de cría en cautividad tienen que ser sometidas a cuidadosas estrategias de manejo (Ballou y Lacy, 1995; Ballou y Foose, 1996; Frankham *et al.*, 2002; Russello y Amato, 2004).

La eficacia de los programas de cría en cautividad también se puede ver afectada por el fracaso reproductivo de ciertas especies mantenidas en cautividad, como el oso panda (*Ailuropoda melanoleuca*), el rinoceronte de Sumatra (*Rhinoceros sumatrensis*) o la pantera nebulosa (*Neofelis nebulosa*) (Rabinowitz, 1995; Holt *et al.*, 2004; Howard *et al.*, 2007) siendo incluso necesario incorporar datos de la genética molecular de la especie para evitar o disminuir la endogamia y poder retener la estructura poblacional de dicha especie como se observa en la naturaleza (Montgomery *et al.*, 1997; Milinkovitch *et al.*, 2004; Leberg y Firmin, 2008).

Otro de los factores limitantes en los programas de cría en cautividad son los derivados del alto coste económico (Snyder *et al.*, 1996). Algunos autores sugieren que los costes de los programas de conservación *ex-situ* exceden al coste de los programas llevados a cabo *in-situ*, incluso cuando son efectuados con una intensa protección (Balmford *et al.*, 1995).

De cualquier manera, los programas de conservación *ex-situ* representan solo una pequeña parte de la respuesta conservacionista en el manejo de una especie amenazada y debería ser complementada con programas de conservación *in-situ* para lograr así un éxito completo en la conservación de dichas especies.

En el caso de la pantera nebulosa continental (*Neofelis nebulosa*), la pérdida y degradación de hábitat, la caza y tráfico ilegales y la disminución de sus presas han colocado a la especie bajo la calificación de *Vulnerable* y sus poblaciones salvajes tienden a disminuir en la actualidad (Nowell, 2007; IUCN, 2011). Por ese motivo, se implementó en el año 2003 un programa integral de conservación *ex-situ* e *in-situ* en Tailandia (Howard *et al.*, 2007).

La pantera nebulosa continental es uno de los felinos salvajes más carismáticos y menos conocidos del Sudeste de Asia, con tan solo seis individuos radio marcados en libertad en Tailandia (Grassman *et al.*, 2004). Tanto la pantera nebulosa continental como la pantera nebulosa Sunda son considerados como felinos de tamaño medio y han ganado la denominación de ser el más pequeño de los grandes felinos (Sunquist y Sunquist, 2002). Ambas especies son consideradas como *Vulnerable* por la IUCN (2011). Las panteras nebulosas habitan el Sur Himalaya en Nepal, Assam, Bután, al sur de Myanmar, sur de China, Taiwán, Vietnam, Laos, Camboya, Tailandia, la península de Malasia, Sumatra y Borneo (Sunquist y Sunquist, 2002).

En cautividad, el studbook o libro de orígenes que sirve de registro genealógico internacional para la pantera nebulosa continental comenzó en los años 70 y no fue hasta 1989 cuando se creó el Plan de Supervivencia de Especies (Species Survival Plan – SSP). Entre los objetivos de este programa se incluyen la identificación de problemas asociados al manejo de la especie en cautividad, la mejora genética de la población cautiva, estabilizar la demografía en la población cautiva y el desarrollo de programas de conservación para la especie en diferentes países (Fazio, 2010).

Esta especie es conocida por ser una de las especies de felinos más difíciles de criar en cautividad, debido a la agresión de los machos hacia las hembras, la baja compatibilidad entre parejas y la alta tasa de mortalidad de los cachorros (Fletcher, 2000; Howard *et al.*, 2007). El programa de supervivencia de especies ha identificado la incompatibilidad entre machos y hembras como la principal amenaza para la pantera nebulosa dentro de la población cautiva (Fletcher, 2007).

Para disminuir la agresividad macho-hembra y facilitar la creación de parejas reproductoras, una de las técnicas empleadas es la de criar juntos, desde los 4-6 meses de edad, un cachorro macho y un cachorro hembra procedentes de diferentes camadas (Fletcher, 2000). De este modo, el macho no desarrolla agresividad hacia la hembra cuando alcanza la madurez sexual (Fazio, 2010).

Al contrario de lo que ocurre con otras especies, las parejas creadas desde estas edades no sufren pérdida de interés sexual y se reproducen con normalidad. Otra técnica es la de criar un macho joven (idealmente de menos de 10-12 meses) junto con una hembra adulta, de tal manera que el macho permanezca con la hembra hasta que alcance su madurez sexual. Desafortunadamente, la variabilidad en el comportamiento de los individuos no asegura el éxito en la reproducción con el empleo de esta modalidad (Fletcher, 2000).

Entre las técnicas de reproducción asistida utilizada en felinos no domésticos, la inseminación artificial ha demostrado ser problemática en esta especie y aunque han existido numerosos intentos, solo se ha descrito en la literatura un único procedimiento con éxito (Howard, 1996). Las panteras nebulosas son propensas a presentar ovulación espontánea sin una ovulación cíclica predecible lo que hace de la inseminación artificial una técnica casi sin utilidad en esta especie (Fazio, 2010).

Actualmente se considera que la pantera nebulosa en cautividad presenta un elevado nivel de endogamia, ya que solo retiene el 78.2% de los genes de los animales fundadores del programa y existen pocas alternativas para crear parejas reproductoras compatibles genéticamente (Fletcher, 2007; Fazio, 2010).

Con todos los estudios llevados a cabo en los últimos años y para mejorar la diversidad genética del programa de supervivencia de especies así como para identificar otros problemas derivados del manejo de esta especie en cautividad, en el año 2003 se creó el “Thailand Clouded Leopard Consortium” entre diferentes instituciones norteamericanas (Smithsonian’s National Zoo y Smithsonian Conservation Biology Institute, Nashville Zoo, Species Survival Plan y Point Defiance Zoo and Aquarium) y tailandesas (National Zoological Parks Organization). Este consorcio desarrolló un programa de conservación *ex-situ* para esta especie en la provincia de Chonburi en Tailandia, dentro del zoológico de Khao Kheow, debido a la alta densidad de panteras que esta organización disponía por entonces. El centro contaba con 28 individuos en sus orígenes, que habían sido confiscados por el gobierno debido a tráfico o tenencia ilegal o a la caza furtiva. Hasta el año 2012 este programa ha visto nacer a 53 cachorros de pantera nebulosa (de los cuales 45 aún sobreviven) y que han enriquecido la genética del programa de supervivencia de especies norteamericano. Actualmente el centro cuenta con 34 individuos (15 machos y 17 hembras). Es el centro de más éxito reproductivo para la especie a nivel mundial.

Otro de los aspectos más importantes de este programa es la cría artificial (o cría a mano, o cría a biberón) de los cachorros que nacen. La cría artificial supone una mejor socialización de las panteras nebulosas ante las personas, disminuyendo el umbral de estrés de las panteras ante la presencia de cuidadores y personal técnico.

Aunque la cría artificial no es una práctica común en félidos silvestres mantenidos en cautividad, puede ser beneficiosa para asegurar la salud inmediata de cachorros que sufren de negligencia materna o para aquellos que están mostrando signos de debilidad o enfermedad (Edwards y Hawes, 1997; Rivas *et al.*, 2009). La cría artificial puede ser recomendada para evitar la falta de capacidad de adaptación a nuevas situaciones tales como mover animales a otras instituciones o instalaciones o el cambio de diferentes cuidadores, o para socializar a los animales que van a formar parte de programas educativos en los que se pondrá en contacto con seres humanos (McGovern, 1998; Rivas *et al.*, 2009). Además con esta técnica se puede conseguir formar parejas reproductoras genéticamente compatibles, ya que la introducción con parejas potenciales se puede hacer a una edad temprana (Fazio, 2010).

La cría artificial se lleva a cabo en camadas de dos o más cachorros, puesto que lo que se persigue es una doble socialización (con panteras y personas). Cuando estos individuos llegan a su madurez sexual, no expresan problemas en el comportamiento reproductivo, lo que sería común en el caso de la cría artificial de camadas de un solo individuo el cual no tiene oportunidad de interactuar con sus hermanos (y que durante su periodo sensible de socialización solo tiene contacto con personas). Para evitar problemas de socialización con ejemplares que nacen solos, el programa recomienda que sean criados con sus madres o bien criar ese cachorro con la camada de otra hembra. Por esa razón, siempre se tiende a sincronizar el periodo reproductivo de dos o más hembras. Los cachorros que son criados a biberón son socializados también frente a multitud de estímulos que aparecerán en edad adulta con el fin de evitar estrés o dificultad en su manejo, haciendo que estos individuos muestren menos timidez cuando son expuestos en zoológicos (Wielebnowski *et al.*, 2002).

Debido a la importancia que se deriva del manejo de los cachorros de pantera nacidos en cautividad, resulta fundamental determinar los patrones de crecimiento durante la lactancia artificial y hasta el destete para ayudar a identificar problemas médicos que resulten de un manejo inadecuado y que puedan poner en peligro la vida de estos valiosos cachorros.

Existe escasa información relacionada con la dinámica de la masa corporal o del desarrollo durante el crecimiento en cachorros de pantera nebulosa (Fellner, 1968; McGovern, 1998). Se han llegado a publicar datos mínimos de las tasas de crecimiento en pantera nebulosa, pero sin tener en cuenta la influencia de factores tales como el sexo o el tamaño de la camada (Fletcher, 2000; tabla 2).

Días de edad	Peso medio (gramos)	Intervalo (gramos)
0-5	214	166-260
6-10	276	200-345
11-15	370	280-457
16-20	518	367-669
21-25	633	475-790
26-30	800	613-988
60	1.795	1.500-2.075
90	3.100	2.700-3.500

Tabla 2. Peso de cachorros machos y hembras (N=20) de pantera nebulosa (*Neofelis nebulosa*) criadas a biberón (Fletcher, 2000).

Los patrones de desarrollo de crecimiento resultan ser de gran importancia en el manejo de especies en cautividad, ya que podrían ser utilizados como una herramienta diagnóstica para identificar posibles problemas médicos del desarrollo y mejorar en general las tasas de supervivencia de los cachorros de pantera nebulosa (Binczik y Reindl, 1987; Wack *et al.*, 1991).

Para mejorar el manejo de esta especie en cautividad en edades tempranas, resulta fundamental crear curvas de crecimiento para cachorros machos y hembras nacidos en cautividad y criados artificialmente así como analizar los factores que afectan a su crecimiento y también investigar si existen diferentes períodos de aumento de peso como ha sido previamente establecido para otros felinos de tamaño medio (Naidenko 2006; Rivas *et al.*, 2009).

1.6. Métodos de captura para felinos salvajes: métodos físicos.

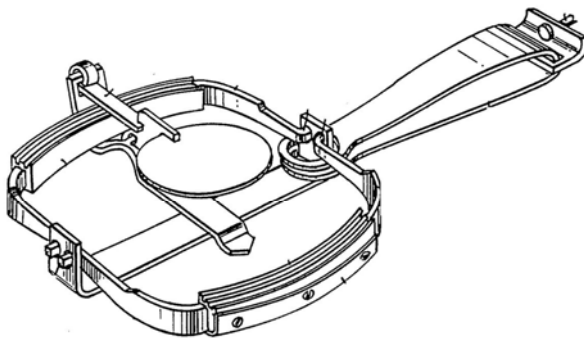
Existe una gran variabilidad en cuanto a los métodos de captura de felinos salvajes. No existe un método de captura universal y la metodología empleada debe considerar la especie que se desea estudiar.

Las trampas más utilizadas para la captura de felinos salvajes incluyen:

- Cepos acolchados
- Lazos
- Persecución con perros
- Cajas-trampa

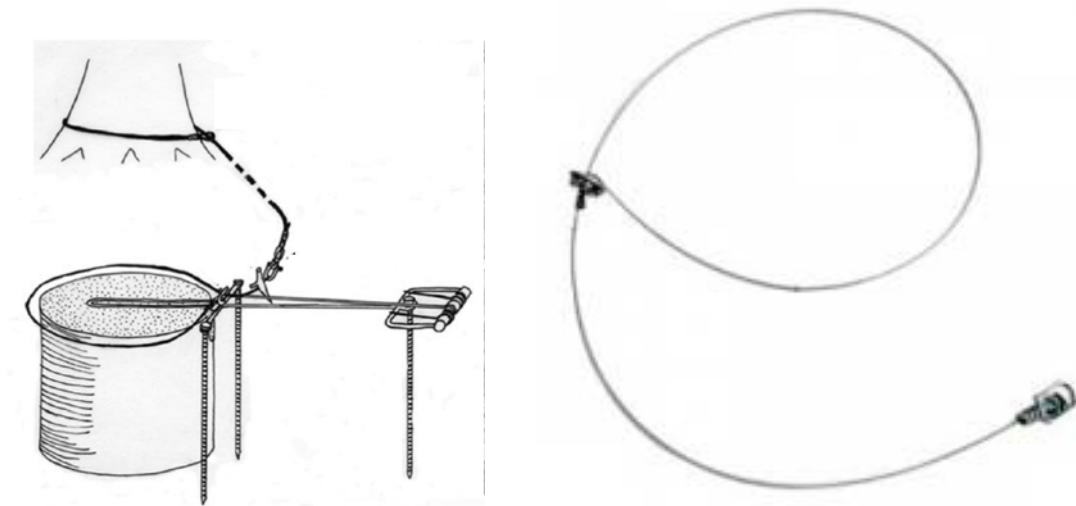
Los cepos son unos artefactos comúnmente fabricados en acero que sirven para inmovilizar alguna de las extremidades del animal cuando este lo activa cuando pisa sobre él. Aunque hay varios tipos de cepos de caza, los que normalmente son utilizados en investigación constan de dos ramas o mandíbulas que se cierran cuando el animal pisa una pequeña plataforma que mantiene las mandíbulas abiertas (Figura 6A y 6B).

Para disminuir los daños causados en las extremidades, estos cepos presentan unas gomas colocadas en las mandíbulas del cepe y que son las que estarán en contacto con la extremidad del animal. Estas gomas pueden encontrarse en cepos comerciales o pueden ser colocadas en dichos cepos de manera casera.



Figuras 6A y 6B. Cepos acolchados. Figura 6A (izquierda): esquema de un cepe acolchado (adaptado y modificado de Thomas y Askins (1985); patente americana nº US4.557.068). Figura 6B (derecha): cepe comercial mejorado Victor No. 3 Soft Catch (Woodstream Corporation, Lititz, Pensilvania, USA) (Linhart y Dasch, 1992).

Otro de los dispositivos de caza que actúa atrapando a los animales por las extremidades son los lazos. Los lazos tradicionales constan de un cable de acero en forma de bucle conectado a otro cable que sirve de anclaje y que frecuentemente se suele atar a un árbol o a una estaca en el suelo para prevenir que el animal escape con el lazo atado a su extremidad (Scheick *et al.*, 2009; Johansson *et al.*, 2013). Este tipo de lazos tradicionales son problemáticos debido a la elevada incidencia de daños causados en los animales capturados. Por este motivo, los lazos empleados en investigación han sufrido ciertas modificaciones en mayor o menor medida para evitar este inconveniente. Uno de los lazos comerciales modificados más frecuentemente para la captura de fauna salvaje es el lazo Aldrich, que consiste en un lazo activado por un muelle. Entre las modificaciones añadidas a este tipo de lazos para disminuir daños en las extremidades encontramos la incorporación de dos o más cables de anclaje o la incorporación de un muelle entre el lazo y el cable de anclaje que sirve para amortiguar el impacto con la extremidad en caso de que el animal tire del lazo (Johansson *et al.*, 2013).



Figuras 7A y 7B. Lazos. Figura 7A (izquierda): esquema de lazo tipo Aldrich (modificado y adaptado de Frank *et al.*, 2003). Figura 7B (derecha): lazo de acero tradicional (Minnesota trapline products, Outdoorsportsman.com, Arizona, USA)

Tanto los cepos como los lazos se colocan en pasos o caminos utilizados por fauna (Scheick *et al.*, 2009). También se pueden colocar alrededor de presas muertas o carcasas, de tal manera que cuando el depredador se acerque a la zona donde se ha colocado este tipo de cebos quede atrapado por uno de los dispositivos (Frank *et al.*, 2003).

Los cepos acolchados y los lazos han sido extensamente usados para felinos de tamaño medio como el linco canadiense, el ocelote o el linco ibérico (Beltrán *et al.*, 1991; Mowat *et al.*, 1994; Beltrán *et al.*, 1995). También han sido utilizados con éxito en grandes felinos como panteras de las nieves, leones africanos o tigres de Siberia (Jackson, 1996; Frank *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2011; Johansson *et al.*, 2013).

Entre las ventajas del uso de estos dos métodos encontramos el bajo coste, el bajo peso y facilidad para transportarlos a zonas de difícil acceso (McCarthy *et al.*, 2013). Entre las desventajas figura el que se necesita personal con suficiente experiencia para su colocación y que existe la posibilidad de capturar otras especies no deseadas. De los estudios realizados con carnívoros se deriva que el uso de estas técnicas es más estresante para el animal (Kreeger *et al.*, 1990b; Cattet *et al.*, 2008). Con cepos acolchados o lazos es más frecuente encontrar daños de diferente magnitud en las extremidades donde el lazo o el cebo ejerce su acción (Kreeger *et al.*, 1990b; Kolbe *et al.*, 2003), y es altamente recomendable al usar estos métodos emplear paralelamente dispositivos electrónicos o aparatos de radio-telemetría que se activen una vez que el animal haya sido capturado, para minimizar el tiempo de captura y reducir de esta manera los posibles daños que el animal pueda producirse cuando intenta escapar de la trampa (Larkin *et al.*, 2003).

Otro de los métodos empleados para la captura de felinos salvajes es la persecución con perros. Este método se lleva a cabo con perros de razas de caza, como sabuesos, que han sido entrenados para seguir rastros de felinos. Los perros persiguen a los felinos hasta que éstos suben a un árbol para intentar liberarse de la persecución y sentirse a salvo. Una vez en el árbol, los perros son retirados de la zona donde se encuentra el felino, y el veterinario o el biólogo dispara un dardo anestésico al animal (McBride y McBride, 2007; Furtado *et al.*, 2008). De las especies de felinos entre los que esta técnica ha sido más utilizada, destacan los pumas y los jaguares (McBride y McBride, 2007).

La mayor ventaja con el uso de esta técnica es la especificidad. Los perros solo persiguen la especie de felino que se pretende capturar. Para algunos investigadores de jaguares, este método supone el más fiable y seguro de todos (McBride y McBride, 2007). Entre las desventajas con el uso de este método encontramos aquellas que se derivan de realizar la anestesia del animal en el árbol, como por ejemplo caídas de más de cinco metros (Furtado *et al.*, 2008).

Las cajas-trampa o jaulas-trampa son otros de los métodos más extensamente utilizados para capturar felinos de diferentes especies. Aunque actualmente se pueden encontrar cajas-trampa comerciales de diferentes tamaños y para diferentes especies (Havahart, Tomahawk Trap Company), también se pueden construir de manera casera (Kolbe *et al.*, 2003). Básicamente, la caja-trampa consiste de una estructura tipo caja rectangular con paredes sólidas construida con materiales como la madera. Las jaulas-trampa tienen la misma estructura pero con paredes construidas con malla de hierro o acero u otro material metálico (McCarthy *et al.*, 2013). Estas trampas tienen uno o dos de sus extremos abiertos que es por donde el animal tiene acceso al interior de la trampa. Estos extremos se cierran como puertas por mecanismos que varían dependiendo del tipo de trampa, aunque usualmente es mediante una guillotina que se activa al pisar un pedal o plataforma situado en el otro extremo de la jaula (en el caso de trampas que solo tengan un extremo abierto) o al pisar la plataforma situada en el centro de la trampa (cuando tiene los dos extremos abiertos).



Figura 8. Jaula-trampa comercial de una sola puerta (Havahart, 2014 Woodstream Corporation, St. Lititz, Pensilvania, USA).

Las cajas-trampa se colocan en aquellas zonas frecuentadas por la especie que se desea capturar, normalmente en zonas adyacentes a pasos de fauna o carreteras. Es importante cubrir el suelo de la trampa con tierra/hojas de la zona para dar continuidad en sustrato a medida que el animal entra en la trampa así como cubrir en mayor o menor medida el resto de la trampa con vegetación para obtener cierto camuflaje y para ofrecer al animal capturado protección contra posibles inclemencias del tiempo (McCarthy *et al.*, 2013).

Para atraer al animal al interior de la trampa se pueden emplear diferentes tipos de cebos o señuelos. Entre los cebos más empleados para la captura de carnívoros silvestres encontramos presa viva o carcasa (Kolbe *et al.*, 2003; Grassman *et al.*, 2004; Rajaratnam *et al.*, 2007; Muñoz-Igualada *et al.*, 2008). Puede ser recomendable el colocar el cebo dentro de las trampas antes de comenzar el período de capturas para familiarizar al individuo con la trampa antes de que pueda ser capturado e intentar obtener así un mayor número de capturas (Way *et al.*, 2002). En el caso de los señuelos encontramos señuelos olfatorios y visuales. Como señuelos olfatorios pueden ser utilizados almizcles o feromonas de otras especies y como señuelos visuales se pueden usar plumas de aves o láminas de aluminio colgadas del extremo abierto de la trampa (Kolbe *et al.*, 2003).

Las cajas-trampa y jaulas-trampa han sido empleadas con éxito para la captura de felinos de tamaño pequeño como gatos leopardo, felinos de tamaño medio como linceos rojos y felinos de tamaño grande como jaguares (Beltrán y Tewes, 1995; Rajaratnam *et al.*, 2007; Furtado *et al.*, 2008). Entre las ventajas derivadas del uso de esta trampa encontramos la baja probabilidad de causar daños en el individuo capturado (McCarthy *et al.*, 2013). En un estudio de capturas en linceos canadienses realizado por Kolbe *et al.* (2003), el uso de cajas-trampa caseras sirvió para verificar que esta técnica demuestra ser una buena alternativa al uso de cepos acolchados o lazos basándose en la práctica ausencia de daños encontrados en los animales capturados. Además supuso ser una buena opción al ser más barata que cajas-trampa comerciales (Kolbe *et al.*, 2003).

Las cajas-trampa y jaulas-trampa son en general uno de los métodos más caros y de los que supone más esfuerzo humano cuando necesitan ser transportadas a zonas remotas o de difícil acceso (McCarthy *et al.*, 2013). Además, si las trampas no están en buenas condiciones, o los materiales empleados no son los adecuados, los animales pueden infligirse algún daño al intentar escapar de ellas.

Uno de los daños más típicos encontrados en felinos capturados en cajas trampa son los relativos a la pérdida o fractura de alguna pieza dentaria, lo que puede llegar a suponer una seria amenaza para su supervivencia tras la captura (Furtado *et al.*, 2008; McCarthy *et al.*, 2013).

En aquellos casos en los que las cajas/jaulas trampa (o cualquier otro método de captura físico) puedan ser monitoreadas o vigiladas por cámaras trampa, es posible calcular la tasa de captura (TC) definido como el número de individuos capturados dividido por la suma de individuos capturados y de individuos que entraron en la trampa de manera completa o parcial pero que no fueron atrapados (Suzán y Ceballos, 2005; McCarthy *et al.*, 2013). La tasa de captura puede ayudar a entender la efectividad de un determinado método físico de captura. Asimismo resulta de valiosa información el cálculo del éxito de capturas (EC) definido como el porcentaje de individuos capturados por número de noches de captura que determina el esfuerzo realizado para llevar a cabo la captura de una especie determinada por un determinado método físico de captura (Suzán y Ceballos, 2005; McCarthy *et al.*, 2013).

1.7. Métodos de captura para felinos salvajes: métodos químicos

La inmovilización química de los felinos salvajes se lleva a cabo mediante la administración de fármacos anestésicos siguiendo los mismos principios y técnicas empleados con el gato doméstico (Gunkel y Lafortune, 2007).

Los felinos salvajes objeto de programas de conservación son en ocasiones capturados y anestesiados por investigadores para el marcaje y la colocación de los collares radio-transmisores que permiten el seguimiento de los individuos capturados. Para lograr un mejor entendimiento de la ecología y comportamiento de la especie y poder aplicarlo más tarde a programas de conservación, resulta crucial conocer que hábitat necesita dicha especie o que factores pueden afectar al tamaño de su territorio, información que puede ser obtenida con el uso de dichos collares (Osofsky y Hirsch, 2000). Además la captura y anestesia de estas especies puede llevarse a cabo por otros motivos como obtención de muestras biomédicas, como sangre, pelo, heces o fluidos corporales (para estudios serológicos, parasitológicos, genéticos, etc...), traslocación o reintroducción a otros territorios, o incluso para permitir el manejo de individuos que requieran asistencia médica (Osofsky, 1993; Osofsky, 1994).

Asimismo, en cautividad, y dependiendo del procedimiento médico que se desea realizar, a veces es necesario la anestesia de los individuos. En algunas instituciones zoológicas se emplean diversas técnicas de entrenamiento en los animales para obtener comportamientos voluntarios en procedimientos tales como inyecciones intramusculares o intravenosas (Gunkel y Lafortune, 2007), aunque existen otros procedimientos médicos rutinarios que usualmente necesitan de anestesia general como radiología o ecografía, aunque esta última puede ser llevada a cabo sin anestesia en individuos entrenados. De cualquier manera, muchas de las especies de felinos salvajes mantenidos en cautividad necesitarán ser inmovilizados químicamente meramente por cuestiones de seguridad con el personal técnico.

Aunque existe una gran variedad de anestésicos disponibles, no existe un fármaco ideal para cada especie y se recomienda utilizar anestésicos (o combinaciones de ellos) que reúnan determinadas características, entre las que encontramos (Ocampo y Sumano, 1985; Fowler, 1986; Casas-Díaz, 2007):

- Amplio margen de seguridad: un elevado margen de seguridad o elevado índice terapéutico (dosis letal/dosis efectiva) permite cierto margen de error en la administración del fármaco, que en caso de animales salvajes puede ser debido a infra o sobre estimación del peso corporal para el cálculo de la dosis, desconocimiento del estado de salud del individuo o variación individual en la respuesta al fármaco empleado.

- Estabilidad de la solución: algunos de los fármacos empleados van a requerir almacenamiento en lugares frescos o secos (medetomidina) o en refrigeración (xilacina). Otros fármacos se encuentran en forma de polvo y necesitan ser reconstituidos en agua estéril (tiletamina-zolacepam) y a partir de su reconstitución la solución pierde estabilidad con el tiempo.
- Compatibilidad con otros fármacos: los anestésicos deberían presentar propiedades físico-químicas que fueran compatibles para su mezcla con otros compuestos.
- No irritante a nivel muscular: la mayoría de los fármacos empleados en anestesia de felinos no domésticos son administrados por vía intramuscular. Algunos de estos fármacos, debido fundamentalmente a su pH, van a causar daño o irritación transitorios en el sitio de inoculación.
- Concentración adecuada: en anestesia de fauna silvestre se persigue utilizar fármacos con concentraciones elevadas que permitan su administración con poco volumen. Los anestésicos con concentraciones bajas y volúmenes elevados pueden ser problemáticos a la hora de ser administrados por métodos de tele-inyección (dardos) y potencialmente pueden causar más daño al rasgar fibras musculares.
- Período de inducción corto.
- Disponibilidad de un antídoto específico, para sirvan para revertir los efectos del anestésico en caso de situaciones de riesgo o simplemente para acelerar los períodos de recuperación.
- Pocos efectos secundarios.
- Bajo coste económico.

En fauna silvestre existen diferentes métodos de tele-inyección para la administración de los fármacos entre los que destacan la jeringa en mango telescópico, la cerbatana, la pistola anestésica y el rifle anestésico. El uso de uno u otro de estos métodos va a depender de la distancia a la que se encuentre el animal, puesto que mientras que la jeringa en mango telescópico podrá ser utilizado solo en animales confinados en trampas o restringidos en espacios donde podamos acceder de forma segura al animal, la cerbatana, la pistola y el rifle podrán ser utilizados en situaciones que se requiera disparar el dardo a distancia, donde cerbatana y pistola son de utilidad si las distancias son cortas, y solo utilizando el rifle si las distancias son largas (>20 metros)(Fowler, 1986).

De los felinos del Borneo malayo, solo se han capturado gatos leopardo (Rajaratnam *et al.*, 2007) y una hembra de pantera nebulosa Sunda (Hearn *et al.*, 2013) por motivos exclusivamente ecológicos. En ninguno de esos estudios se detalla los efectos de la anestesia sobre los ejemplares capturados. No existen otras referencias bibliográficas referentes a la anestesia de ninguna otra de la especies de gatos salvajes de Borneo.

Por esa razón, nuestra investigación se ha centrado en la monitorización anestésica de ejemplares de gato leopardo y pantera nebulosa Sunda, para crear protocolos anestésicos seguros y fiables durante el manejo de estas especies en el campo y en cautividad.

Entre los fármacos empleados para la inmovilización química de felinos destacan los ciclohexanos, agonistas α -2 adrenérgicos, las benzodiacepinas o combinaciones entre ellos.

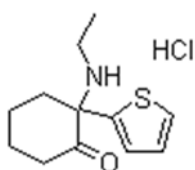
1.7.1 Ciclohexanos

Los ciclohexanos o también conocidos como anestésicos disociativos, son un grupo de fármacos que engloban la tiletamina, la ketamina y la pencyclidina (Kreeger, 2002). Mediante estudios de electroencefalografía se ha comprobado que estos fármacos causan una disociación electrofisiológica entre los sistemas límbico y tálamoneocortical, produciendo un estado cataléptico en el individuo (Lin *et al.*, 1993). En este estado disociativo se cree que el cerebro falla en conducir los impulsos eferentes debido a una interrupción en la comunicación entre la corteza sensorial y las áreas de asociación (Haas y Harper, 1992).

Si los ciclohexanos son administrados sin tranquilizantes o sedantes, pueden causar inducciones o recuperaciones bruscas o incluso convulsiones (Kreeger, 2002).

Tiletamina

La fórmula química de la tiletamina es hidrocloreto de 2-(Etilamino)-2-(2-tienil) ciclohexanona ($C_{12}H_{17}NOSHCl$) y su estructura molecular es la siguiente (Chemblink, 2011):



La tiletamina es un ciclohexano que no se encuentra disponible comercialmente sola, sino que se encuentra combinada en proporciones iguales junto con la benzodiacepina zolacepam, el nombre comercial de esta combinación es Telazol® o Zoletil®. Si se administra sin el zolacepam, la tiletamina causa convulsiones y espasmos musculares tónico-clónicos (Kreeger, 2002; Grimm y Lamont, 2007). Beck (1972) identificó la potencia relativa de la tiletamina en comparación con la ketamina de 2.5:1.

Los efectos de la tiletamina varían desde la sedación hasta la inmovilización dependiendo de la dosis (Thurmon *et al.*, 1972) y se ha observado que movimientos musculares reflejos pueden ocurrir independientemente de la estimulación quirúrgica (Lin *et al.*, 1993). La tiletamina produce un estado cataléptico en la mayoría de especies si se administra en dosis moderadas, y a dosis altas produce analgesia y anestesia en diferentes especies incluyendo al gato doméstico (Chen *et al.*, 1968). De entre varias especies, la tiletamina resulta más efectiva produciendo efectos anestésicos en gatos y primates, aunque en dosis cercanas a la dosis letal 50 (DL₅₀) en gatos (150 mg/kg IM) puede ocasionar convulsiones clónicas moderadas (Lin *et al.*, 1993).

En general, los efectos de la tiletamina a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC) parecen ser dosis-dependientes, induciendo una pérdida de la percepción sensorial progresiva y pérdida de conciencia, pero sin llegar a una condición similar al sueño profundo (Lin *et al.*, 1993). Con la tiletamina los ojos permanecen abiertos y el reflejo corneal no se ve afectado, la relajación muscular y la analgesia no son suficientes como para llevar a cabo un plano quirúrgico visceral (Lin *et al.*, 1993).

A dosis catalépticas o moderadas en el gato doméstico, la tiletamina no produce depresión respiratoria (Bennet, 1969). Massopust *et al.* (1973) en su estudio de la tiletamina en gatos, describió una respiración irregular, una disminución en el pH arterial y un aumento en la presión parcial de dióxido de carbono. El patrón respiratorio puede ser revertido con el uso de benzodiacepinas o fenotiacinas (Calderwood *et al.*, 1971).

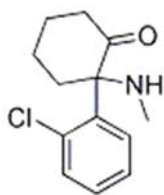
A nivel cardiovascular la tiletamina intravenosa a dosis de 11 mg/kg produce disminución de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial, aunque no de manera significativa y no por más de 30 minutos, volviendo gradualmente a valores normales (Calderwood *et al.*, 1971).

La vida media plasmática en gatos es de 2-4 horas (Lin *et al.*, 1993).

Ketamina

La ketamina es probablemente uno de los fármacos más utilizados en la anestesia de especies no domésticas (Kreeger, 2002). El grado de inconsciencia y analgesia producido por este fármaco es dosis dependiente. La ketamina presenta acción rápida, alcanzando su máximo efecto tras un minuto (Lin *et al.*, 2015).

La fórmula química de la ketamina es 2-(2-Clorofenil)-2-Metilamino-1-Ciclohexanona (C₁₃H₁₆ClNO) y su estructura molecular es la siguiente (Chemblink, 2011):



En veterinaria, las formulaciones de ketamina consisten en una mezcla racémica de dos enantiómeros ópticos (Grimm y Lamount, 2007).

La ketamina induce anestesia y amnesia mediante una disociación funcional del SNC, debido al antagonismo ejercido en receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (Lin *et al.*, 2015), resultando en catalepsia, inmovilidad, amnesia y una analgesia marcada (Kreeger, 2002; Grimm y Lamount, 2007). Estos receptores tienen un papel importante en la transmisión de la información sensorial y median en la excitación de neuronas del SNC tras la interacción con neurotransmisores aminoácidos excitables. La analgesia producida por la ketamina parece también mediada en parte por receptores opioides localizados en el cerebro, en la médula espinal y lugares periféricos. La ketamina tiene afinidad por receptores opioides tipo mu (Smith *et al.*, 1987; Haas y Harper, 1992).

A nivel respiratorio y a diferencia de otros tranquilizantes o sedantes, la ketamina no deprime la respuesta de ventilación en situaciones de hipoxia (Booth, 1988). En animales, la ketamina es similar a la tiletamina produciendo depresión respiratoria dosis-dependiente, y en gatos han sido descritos patrones respiratorios irregulares al administrar ketamina a dosis elevadas (Wright, 1982).

La ketamina puede ser administrada vía intramuscular o intravenosa, aunque por vía intramuscular produce un tiempo de anestesia más largo, además de recuperaciones más disfóricas y largas (Kreeger, 2002; Grimm y Lamount, 2007).

Entre las ventajas encontradas al administrar este fármaco se encuentran (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002; Grimm y Lamount, 2007):

- Alto margen terapéutico
- Analgesia periférica
- Depresión respiratoria mínima
- Buen soporte cardiovascular, al incrementar el pulso cardíaco y la presión sanguínea.

Se ha descrito el uso de la ketamina como único anestésico en gatos doméstico y otras especies de felinos salvajes a dosis elevadas comprendidas entre los 11-44 mg/kg , aunque no sin efectos adversos (Gunkel y Lafortune, 2007).

Las recuperaciones violentas, la escasa relajación muscular, la intensa salivación o las convulsiones son algunas de las desventajas encontradas al administrar la ketamina sin combinarla con sedantes o tranquilizantes como benzodiacepinas o agonistas α -2 (Kreeger, 2002; Grimm y Lamount, 2007; Gunkel y Lafortune, 2007).

A diferencia de otras especies, en el gato se creía erróneamente que la ketamina se excretaba sin sufrir ningún tipo de proceso metabólico, hasta que estudios de Waterman (1983) demostraron que también en esta especie la biotransformación hepática es la ruta de eliminación más importante (Grimm y Lamount, 2007).

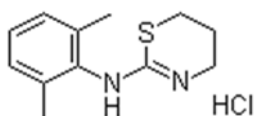
1.7.2. Agonistas α -2

En este grupo de fármacos se encuentran la xilacina, la medetomidina, la detomidina y la romifidina. Este grupo actúa sobre los receptores α -2 adrenérgicos, que pertenecen a una subclasificación de receptores α -adrenérgicos. Estos receptores se han encontrado en el SNC, tracto digestivo, útero, riñón y plaquetas, lugares donde ejercen efectos diversos. Estos agonistas se unen y cambian intrínsecamente las membranas pre y postsinápticas de los receptores α -2 adrenérgicos, inhibiendo la liberación de norepinefrina, que produce una inhibición del tono simpático, bradicardia e hipotensión (Paddleford y Harvey, 1999). Los efectos conseguidos tras bloquearse la liberación de norepinefrina son sedación y analgesia, similares a las que se obtienen tras la estimulación de receptores opioides del SNC. Esto es debido a que receptores α -2 adrenérgicos y receptores opioides (receptores μ) se encuentran en las mismas áreas del cerebro y en las mismas neuronas. Este grupo de fármacos ejerce su acción sedante mayoritariamente en el locus ceruleus, mientras que la relajación muscular ocurre tras la inhibición de la médula espinal a nivel interneuronal (Paddleford y Harvey, 1999). Los animales sedados exclusivamente con este grupo de fármacos pueden llegar a despertarse con ciertos estímulos, por lo que usualmente los α -2 agonistas son administrados junto con ciclohexanos y opiodes, mejorando la calidad de la inmovilización química (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002). El desarrollo de potentes y selectivos antagonistas de receptores α -2 adrenérgicos ha incrementado y mejorado el uso de estos sedantes (Kreeger, 2002).

Xilacina

La xilacina fue el primer agonista α -2 que se ha utilizado en medicina veterinaria. Apareció en Europa por primera vez en los años 60, cuando fue sintetizado en Alemania como hipertensivo. A finales de esta década fue utilizado como sedante en perros y a finales de los 70 ya se utilizaba como sedante y pre-anestésico en una gran variedad de especies.

La xilacina o hidrocloreto de 2-(2,6-dimetilfenilamino)-5,6-dihidro-4H-tiazina ($C_{12}H_{16}N_2S.HCl$), presenta la siguiente fórmula molecular (Chemblink, 2011):



A nivel del SNC, los efectos sedantes y analgésicos de la xilacina se deben a su habilidad para inhibir la liberación de epinefrina. En el perro y en el gato, los efectos analgésicos presentan una duración de 15-30 minutos, mientras que los efectos sedantes se pueden prolongar hasta 2 horas (Paddleford y Harvey, 1999).

La xilacina también produce relajación muscular, depresión vasomotora central, y un aumento de la actividad vagal central y de los baroreceptores (Paddleford y Harvey, 1999).

A nivel cardiovascular, la xilacina puede producir una hipertensión inicial de corta duración (debido a la estimulación de los receptores adrenérgicos postsinápticos periféricos que producen vasoconstricción) seguida de una disminución en el gasto cardiaco y en la presión sanguínea de larga duración (Kroneberg *et al.*, 1967). La disminución en la presión sanguínea se debe a una disminución del tono simpático por acción de la xilacina sobre receptores α -2 adrenérgicos presinápticos del SNC y Sistema Nervioso Simpático (Schmidt *et al.*, 1970).

A nivel cardiaco, la xilacina puede llegar a producir las siguientes arritmias por aumento del tono vagal (Antonaccio *et al.*, 1973; Klide *et al.*, 1975; Paddleford y Harvey, 1999):

- Bradicardia sinusal
- Bloqueo auricular
- Bloqueo auriculo-ventricular de primer y segundo grado
- Disociación auriculo-ventricular
- Arritmia sinusal

A nivel respiratorio se han observado los siguientes efectos (Klide *et al.*, 1975; Haskins *et al.*, 1986; Tranquilli y Maze, 1993):

- Relajación de la laringe
- Inhibición de la tos
- Disminución de la frecuencia respiratoria, sin cambios en el pH arterial.

A nivel digestivo la xilacina puede causar vómitos en perro y más frecuentemente en gatos por activación de los receptores α -2 centrales (Paddleford y Harvey, 1999).

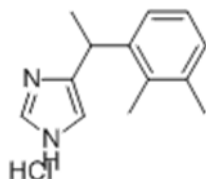
También puede causar hipoglucemia e hiperinsulinemia por estimulación de los receptores α -2 adrenérgicos de las células beta pancreáticas que inhiben la liberación de insulina (Benson *et al.*, 1984).

Aunque la xilacina no se asocia con una elevada incidencia de problemas obstétricos, si existen informes anecdóticos en los que su uso ha producido abortos y partos prematuros, lo que hace que su empleo no sea recomendable en animales gestantes (Greene y Thurmon, 1988).

Medetomidina

La medetomidina o hidrocloreto de [(±)-4-[1-(2,3-dimetil-fenil)etil]-1H-imidazol (C₁₃H₁₇ClN₂) es un potente y selectivo agonista de receptores α-2 adrenérgicos pre y postsinápticos (Jalanka y Roenken, 1990). Es de naturaleza lipofílica y se absorbe completamente tras su inyección intramuscular. Induce una sedación y analgesia más largas en comparación con la xilacina (Sinclair, 2003).

La medetomidina presenta la siguiente fórmula molecular (Chemblink, 2011):



Comparada con la xilacina, la medetomidina tiene 10 veces más especificidad por receptores α-2 que por receptores α-1 (Jalanka y Roenken, 1990; Plumb, 2005).

La medetomidina es una mezcla racémica donde solo el D-enantiómero es el isómero activo que actúa modulando la liberación de norepinefrina en terminales nerviosas adrenérgicas (Jalanka y Roenken, 1990; Plumb, 2005). Los efectos farmacológicos de la medetomidina incluyen (Kreeger, 2002; Plumb, 2005):

- Depresión del SNC
- Disminución de la motilidad y de las secreciones del tracto digestivo
- Vasoconstricción periférica y cardíaca.
- Bradicardia
- Depresión respiratoria
- Diuresis
- Hipotermia
- Analgesia
- Relajación muscular

Tras su administración, ya sea por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa, es metabolizada en el hígado y es excretada por los riñones (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002; Plumb, 2005).

Los efectos adversos del uso de la medetomidina son los derivados de su propia acción farmacológica y son similares a los descritos para la xilacina (Paddleford y Harvey, 1999; Kreeger, 2002; Plumb, 2005):

- Bradicardia
- Bloqueos aurículo-ventriculares
- Depresión respiratoria
- Micción
- Vómito
- Hiperglucemia e hipoinsulinemia
- Depresión respiratoria
- Hipotermia
- Dolor en el sitio de inoculación, cuando se administra intramuscular.

El uso de dosis elevadas de medetomidina (mayores a 0.8 mg/kg) lleva consigo un aumento en el tiempo de sedación y de los efectos adversos cardiovasculares sin producir un plano de sedación más profundo. Dosis más bajas que 0.1 mg/kg pueden no llegar a producir la sedación deseada y tampoco aseguran disminuir la frecuencia y severidad de los efectos adversos de este fármaco. A pesar de que el uso de anticolinérgicos (atropina, glicopirrolato) ha sido ampliamente empleado para revertir los efectos negativos de la medetomidina, su uso no es recomendable de manera rutinaria ya que incrementa la frecuencia de arritmias. (Sinclair, 2003). Aunque se ha descrito el uso de la medetomidina como único fármaco anestésico para la inmovilización química de determinados carnívoros, es más frecuente encontrar la combinación de medetomidina y ketamina (Jalanka y Roenken, 1990; Gunkel y Lafortune, 2007; Baldwin *et al.*, 2008)

Detomidina

La detomidina no es utilizada de forma rutinaria en protocolos anestésicos de fauna salvaje. Fue desarrollada como sedante y analgésico en grandes animales (équidos y vacuno), y tampoco se emplea en clínica de pequeños animales (Belda, 2005).

La detomidina es un derivado imadazólico y ligeramente básico y presenta mayor especificidad para receptores α -2 que la xilacina (Virtanen y Nyman, 1985).

De un estudio realizado en gatos, el empleo de detomidina a dosis comprendidas entre 1-30 μ gr/kg provocó hipotensión y bradicardia dosis-dependiente (Savola *et al.*, 1985).

Romifidina

Otro de los agonistas α -2 adrenérgicos que ha sido desarrollado principalmente para uso en caballos es la romifidina. Este fármaco produce menos ataxia que la xilacina y la detomidina a dosis equipotentes (England *et al.*, 1992).

En estudios realizados con carnívoros domésticos (perros y gatos), la romifidina produce signos similares a los descritos con otros fármacos del mismo grupo como sedación, vómito, disminución de la frecuencia respiratoria o bradicardia con taquicardias intermitentes (England y Hammond, 1997; Selmi *et al.*, 2002).

En gatos, se recomienda el uso de anticolinérgicos en protocolos que utilicen romifidina y butorfanol para prevenir bradicardia (Selmi *et al.*, 2002).

1.7.3. Benzodiacepinas

En este grupo se incluyen el diazepam, el midazolam o el zolacepam entre otros como fármacos más extensamente usados en medicina veterinaria. Entre ellos el midazolam produce efectos clínicos más rápidos y de duración más corta (Nordt y Clark, 1997). Este rápido mecanismo de acción del midazolam es debido a su particular estructura química que le permite, en pH fisiológico, convertirse en extremadamente lipofílico. Además, su solubilidad en agua permite el que no se añada propilenglicol en su preparación comercial, disminuyendo la irritación venosa (si se emplea por esta vía) así como la aparición de arritmias (Dundee *et al.*, 1984; Reves *et al.*, 1985). Mientras que el diazepam tiene una absorción muscular incompleta, el midazolam se absorbe rápidamente por esta vía, presentando una biodisponibilidad de más del 90% (Nordt y Clark, 1997). Todas las benzodiacepinas sufren biotransformación por oxidación microsomal hepática, seguida de conjugación glucurónica (Greenblatt y Abemethy, 1985).

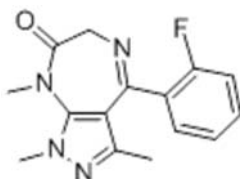
Las benzodiacepinas son excelentes relajantes musculares que se han empleado extensamente en inmovilización química de fauna salvaje como anticonvulsivante tras el empleo de ciclohexanos (Kreeger, 2002). Otros de los usos en medicina veterinaria derivan de su empleo como modificadores de comportamiento, premedicación y como parte de protocolos de neuroleptoanalgesia (Booth, 1982). En animales, las ventajas que se encuentran al usar este grupo de fármacos son (Lin *et al.*, 1993):

- Amnesia.
- Depresión cardiorrespiratoria mínima.
- Fuerte acción anti-convulsivante.
- Seguridad relativa (en casos de sobredosis.)
- No desarrollo de tolerancia significativa o dependencia física.

Las benzodiacepinas presentan acción rápida y duración corta y no tienen propiedades analgésicas (Stoelting, 1987).

Zolacepam

El zolacepam o 4-(O-Fluorofenil)-6,8-Dihidro-1,3,8-Trimetilpirazol[3,4-E][1,4]Diazepin-7(1H)- -D3 (C₁₅H₁₅FN₄O) es un tranquilizante benzodiacepínico que solo se encuentra disponible comercialmente junto con el ciclohexano tiletamina. Presenta la siguiente estructura molecular (Chemblink, 2011):



En el gato doméstico, el zolacepam administrado tanto por vía intramuscular como por vía endovenosa no induce anestesia o tranquilización (Massopust *et al.*, 1973). Si se compara con el diacepam, el zolacepam no causa depresión a nivel del SNC, y es por esta característica por lo que se seleccionó como benzodiacepina para combinarla con la tiletamina en el desarrollo del Zoletil® (Lin *et al.*, 1993). Determinados efectos ansiolíticos han sido descritos tras el uso de este fármaco en ratas y a dosis de hasta 10 mg/kg, aunque el uso de esta misma dosis en gatos originó comportamiento agresivo, “reacción de miedo”, exploración territorial continua o comportamiento histérico de saltos (Massopust *et al.*, 1973; Kreeger, 2002). El zolacepam se combina con la tiletamina para mejorar la anestesia de esta combinación, resultando en un menor número de convulsiones, mejor relajación muscular y recuperaciones menos violentas o bruscas (Kreeger, 2002).

El zolacepam a 10 mg/kg por vía intramuscular en gatos no produce depresión respiratoria y presenta unos mínimos efectos sobre la frecuencia respiratoria y un aumento en la frecuencia cardíaca (Lin *et al.*, 1993). En ratas, este fármaco no presenta efectos adversos en el sistema digestivo, en la función ovárica, en el comportamiento reproductivo o en la secreción de gonadotropinas cuando se administra a dosis terapéuticas (Lin *et al.*, 1993).

La vida media plasmática del zolacepam en gatos es de 4.5 horas (Lin *et al.*, 1993).

1.7.4. Antídotos

El uso de antídotos específicos y selectivos para anestésicos opiáceos o agonistas α -2 adrenérgicos ha supuesto uno de los mayores progresos farmacológicos en el campo de la medicina veterinaria y en particular en la inmovilización química de fauna salvaje (Kreeger, 2002).

Entre los beneficios del uso de antídotos, Kreeger (2002) destaca los siguientes:

- Remedia los problemas derivados de estar en decúbito prolongadamente, tales como daños musculares o nerviosos, hipotermia o timpanismo.
- Al eliminar los efectos residuales de la administración de los fármacos anestésicos, como por ejemplo sedación o ataxia, se reduce la probabilidad de que existan lesiones o muertes después de las recuperaciones como consecuencia de accidentes o depredación.
- En animales sociales, también se reduce la probabilidad de que el animal anestesiado sea rechazado por su manada o grupo, al recuperarse más rápido del evento anestésico e integrarse de nuevo con sus congéneres.
- Con el uso de antídotos se reduce notablemente el tiempo en que el personal técnico tiene que dedicar a vigilar la recuperación anestésica del individuo.

Dentro de los fármacos antagonistas de receptores α -2 adrenérgicos, se encuentran la yohimbina, la tolazolina, el idazoxan y el atipamezol.

Antagonistas de receptores α -2 adrenérgicos

Tolazolina

De todos los antagonistas de este grupo, la tolazolina es la menos específica de receptores α -2 adrenérgicos. Este fármaco es un agonista muy potente de receptores H_2 y su empleo en pacientes humanos ha ido asociado a sangrado gastrointestinal, dolor abdominal, náuseas y diarreas (Silverman *et al.*, 1970). Aunque este antagonista está prácticamente en desuso en medicina veterinaria de pequeños animales, todavía es empleado en fauna silvestre para revertir los efectos de la medetomidina, combinado con atipamezol para, de esta manera, abaratar los costes en el uso del antídoto (Paddleford y Harvey, 1999; Wolfe *et al.*, 2014).

Yohimbina

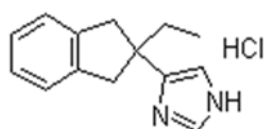
Aunque la yohimbina ha demostrado ser más eficaz que la tolazolina, presenta menos especificidad para los receptores α -2 adrenérgicos que el atipamezol (Hsu, 1983).

La yohimbina también afecta a receptores dopaminérgicos, serotoninérgicos y GABA-érgicos. Las dosis empleadas para revertir los efectos de la xilacina en carnívoros domésticos varían entre 0.1 y 0.2 mg/kg, administradas por vía intramuscular o endovenosa (Paddleford y Harvey, 1999).

Aunque en muy raras ocasiones, el uso de yohimbina y tolazolina por vía endovenosa y a rápida velocidad ha producido la muerte (Hsu *et al.*, 1983).

Atipamezol

El atipamezol o hidrocloreuro de 4-(2-Etil-2,3-dihidro-1H-inden-2-yl)-1H-imidazol ($C_{14}H_{16}N_2 \cdot HCl$) presenta la siguiente estructura molecular (Chemblink, 2011):



El atipamezol es el antagonista más potente y selectivo para receptores α -2 adrenérgicos y no se ha demostrado que tenga efectos sobre otros receptores beta, histaminérgicos, opioides, benzodiacepínicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos o GABA-érgicos (Jalanka y Roenken, 1990; Paddleford y Harvey, 1999; Plumb, 2005). Entre sus efectos farmacológicos encontramos una disminución de la presión sanguínea, aumento de las frecuencias cardíacas y respiratorias y disminución del efecto analgésico producido por los agonistas de receptores α -2 adrenérgicos (Plumb, 2005).

La ruta de administración del atipamezol es la intramuscular (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002; Gunkel y Lafortune, 2007). La ruta intravenosa debe administrarse solo en urgencias ya que, aunque proporciona recuperaciones anestésicas de 1-2 minutos, estas recuperaciones son menos suaves y seguras, al producir excitación en el individuo (Kreeger, 2002; Sinclair, 2003; Grimm y Lamont, 2007; Gunkel y Lafortune, 2007). Otros efectos descritos tras el uso del atipamezol por vía endovenosa incluyen hipotensión y taquicardia (Paddleford y Harvey, 1999).

La vida media del atipamezol es dos veces superior a la de la medetomidina, por eso existe un riesgo mínimo de renarcotización una vez que la medetomidina ha sido revertida con el atipamezol (Paddleford y Harvey, 1999).

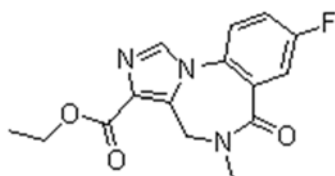
La dosis más utilizada de atipamezol es 3-5 mg por cada miligramo de medetomidina intramuscular administrada (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002; Plumb, 2005; Gunkel y Lafortune, 2007). Esta dosis se puede disminuir en casos en los que los procedimientos anestésicos sean más largos, al haberse metabolizado parte de la medetomidina (Gunkel y Lafortune, 2007).

Otros antagonistas

Flumazenilo

Incluimos el receptor antagonista flumazenilo como antídoto parcial de la combinación anestésica tiletamina-zolacepam, puesto que este fármaco es solo capaz de revertir los efectos de las benzodiazepinas (Plumb, 2005). Este fármaco pertenece a una clase más reciente de benzodiazepinas llamadas imidazobenzodiazepinas (Nordt y Clark, 1997).

El flumazenilo o etil 8-fluoro-5-metil-6-oxo-5,6-dihidro-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxilato ($C_{15}H_{14}FN_3O_3$) presenta la siguiente estructura molecular (Chemblink, 2011):



Hay pocos estudios en fauna salvaje que demuestran la eficacia del flumazenilo como antagonista de los efectos de las benzodiazepinas y no hay consenso entre los beneficios de su administración en la familia *Felidae* (Ilkiw *et al.*, 2002; Kreeger, 2002; Walzer y Huber, 2002). Otro de las desventajas que presenta este fármaco es su alto coste, haciendo su uso aún más restringido (Tranquilli *et al.*, 1992; Walzer y Huber, 2002).

1.7.5. Combinaciones anestésicas.

Los principales objetivos del empleo de combinaciones anestésicas son la reducción de las dosis de los fármacos empleados disminuyendo posibles efectos adversos tras el uso de dosis más altas de tranquilizantes o sedantes, el acortamiento en los períodos de inducción anestésica, menor rigidez muscular, mejora en los períodos de recuperación anestésica y disminución del volumen total del anestésico (Kreeger, 2002; Casas-Díaz, 2007).

Combinaciones de tiletamina-zolacepam y medetomidina-ketamina han sido extensamente empleadas en la inmovilización química de felinos silvestres (tabla 3).

Tiletamina-Zolacepam	
Especie	Dosis (mg/kg)
Gato pescador, lince Euroasiático, gato de pies negros, serval, lince rojo	3-5
Pantera de las nieves, león, jaguar, pantera de Florida, leopardo	4-8
Pantera nebulosa, caracal, puma, jaguarondi	6-11

Medetomidina-Ketamina (M-K)	
Especie	Dosis(mg/kg)
Jaguar, leopardo, guepardo, león, puma, tigre	0.018-0.04M-1.9-5.7K
Gato de Pallas, gato de la jungla, lince, gato dorado asiático	0.05-0.07M-2.5-4.5K

Tabla 3. Combinaciones anestésicas empleadas en felinos no domésticos (adaptado de Gunkel y Lafortune, 2007).

Tiletamina-Zolacepam

La tiletamina es un fármaco disociativo, perteneciente al grupo de los ciclohexanos. El zolacepam es un fármaco que pertenece al grupo de las benzodiacepinas. La combinación de ambos fármacos presenta efectos similares a los mostrados con la combinación de ketamina y diazepam (Plumb, 2005).

Durante los estadíos preliminares en el desarrollo de esta combinación, se estudiaron diferentes dosis de tiletamina y zolacepam. Por ejemplo, Massopust *et al.*, (1973) describió que dosis de 20 mg/kg de tiletamina y 10 mg/kg de zolacepam en gatos prolongaron el tiempo de anestesia en 1.5 horas, el doble de tiempo al compararlo con el tiempo de anestesia producido solo con tiletamina.

Asimismo, los efectos adversos observados tras el empleo de la tiletamina, como convulsiones, movimientos musculares clónicos o rigidez muscular, desaparecieron tras el empleo conjunto con zolacepam, y del mismo modo la reacción agresiva por miedo observada tras la administración del zolacepam, no fue observado con el zolacepam cuando se administró conjuntamente con la tiletamina (Lin *et al.*, 1993).

Con esta combinación, los reflejos corneal y parpebral y la flexión de extremidades, se encuentran disminuidos o ausentes, y los reflejos faringo-traqueales permanecen intactos (Lin *et al.*, 1993).

A nivel del SNC, durante la anestesia con tiletamina-zolacepam se produce analgesia al interrumpir la conducción sensorial del impulso nervioso al cerebro, los ojos permanecen abiertos, y los reflejos corneal y podal no se ven afectados. Tampoco el reflejo de deglución o de la tos se ven afectados con el uso de esta combinación. Si se ha observado un aumento de la salivación en la mayoría de las especies en las que se ha empleado tiletamina-zolacepam (Lin *et al.*, 1993).

A nivel cardiovascular la tiletamina-zolacepam en gatos parece no tener efecto sobre la frecuencia cardíaca (Hellyer *et al.*, 1988; Klein *et al.*, 1989) aunque un estudio si observó un aumento en esta frecuencia al administrar tiletamina-zolacepam a 12.8 mg/kg (por vía intramuscular o endovenosa) (Tracy *et al.*, 1988).

A nivel respiratorio, la tiletamina-zolacepam incrementa las frecuencias respiratorias en la mayoría de especies. Aunque Tracy *et al.* (1988) describió una disminución en la frecuencia respiratoria en gatos tras la administración de tiletamina-zolacepam a 12.8 mg/kg, dicha frecuencia se normalizó o incrementó tras 15 minutos post-inyección. En gatos, la depresión respiratoria parece estar ser dosis dependiente, ya que dosis elevadas de tiletamina-zolacepam causan un aumento en la presión parcial de dióxido de carbono y un aumento en el pH arterial (Hellyer *et al.*, 1988).

En gatos, el periodo de inducción varía entre 1.5-6 minutos (tras administración intramuscular o endovenosa) y los periodos de recuperación son más elevados que en perros (Lin *et al.*, 1993).

Esta combinación farmacológica ha sido extensamente usada en fauna salvaje y encontramos una amplia literatura de su uso en carnívoros (Ballard *et al.*, 1991; Shindle y Tewes, 2000, Walzer y Huber, 2002). Es una combinación que resulta efectiva en condiciones de campo, ya que proporciona cortos periodos de inducción y adecuados planos anestésicos (Gunkel y Lafortune, 2007). El efecto de la tiletamina-zolacepam depende no solo depende de la dosis empleada, si no también de la ruta escogida. Así, mientras que por vía endovenosa los efectos duran de 15 a 20 minutos, por vía intramuscular típicamente se alargan hasta los 45 minutos (Grimm y Lamont, 2007). Grassman *et al.* (2004) comparó el efecto anestésico de la tiletamina y el zolacepam con la combinación de xilacina y ketamina durante su estudio de campo con cuatro especies de felinos salvajes de Tailandia: pantera nebulosa continental (*Neofelis nebulosa*), gato jaspeado (*Pardofelis marmorata*), gato leopardo (*Prionailurus bengalensis*) y gato dorado asiático (*Pardofelis temminckii*), encontrando la tiletamina-zolacepam más adecuada para el manejo anestésico de estas especies por los siguientes motivos: menor volumen de inyección, periodo de inducción más rápido y menor tiempo de rigidez muscular durante el proceso anestésico.

La mayor desventaja en el uso de esta combinación farmacológica reside en los largos períodos de recuperación. Grimm y Lamont (2007) detallan que el tiempo anestésico de la tiletamina-zolacepam es dosis-dependiente, pero no existe un acuerdo general para explicar el porqué de estos prolongados períodos de recuperación en felinos. Mientras que Gunkel y Lafortune (2007) asocian los largos periodos de recuperación a la vida media en plasma de la tiletamina (2-4 horas en gatos frente a 1.2 horas en perros) y del zolacepam (4.5 horas en gatos frente a 1 hora en perros), Walzer y Huber (2002) y Lin *et al.* (1993) encuentran que el metabolismo de la tiletamina en cheetahs, gatos y nutrias de río es más rápido que en perros. Por otra parte, Fahlman (2008) destaca que el zolacepam en gatos, al tener un período de acción más largo que la tiletamina, es el responsable de los largos períodos de recuperación en esta especie.

Debido a que no hay referencias en la literatura sobre anestesia de la pantera nebulosa Sunda, nuestra elección sobre la tiletamina-zolacepam se basó en experiencias previas del uso de esta combinación con la especie más cercana, la pantera nebulosa continental, ya que ambas especies comparten el mismo género (*Neofelis*) (Grassman *et al.*, 2004).

En el caso de los gatos leopardo, existen una serie de publicaciones científicas previas respecto al uso de esta combinación anestésica en condiciones de libertad en Tailandia (Grassman *et al.*, 2004) y en Borneo (Rajaratnam *et al.*, 2007), aunque este último estudio se centra únicamente en aspectos ecológicos de la especie. En todos los casos descritos anteriormente las dosis de tiletamina y zolacepam parecen elevadas, incrementando los tiempos de recuperación y liberación de los individuos capturados. Nuestra investigación utiliza dosis más moderadas de esta combinación con la finalidad de liberar lo antes posible a los animales trampeados. Asimismo, investigamos el uso de dosis más conservadoras de tiletamina y zolacepam junto con otros fármacos como la ketamina, para poder realizar las sueltas tan pronto como los animales no presentaran signos de los fármacos.

Medetomidina-Ketamina.

Medetomidina y ketamina es una combinación farmacológica segura para felinos no domésticos ya que aporta períodos de inducción suaves, buena relajación muscular, tiempos de anestesia de aproximadamente 45 minutos, posibilidad de emplear antídoto específico/selectivo para la medetomidina y buena analgesia (Jalanka y Roenken, 1990; Gunkel y Lafortune, 2007). En felinos exóticos, cuando esta combinación anestésica es empleada sin el antagonista para la medetomidina, la recuperación anestésica suele ocurrir entre la hora y media y las dos horas tras su administración (Jalanka y Roenken, 1990).

Entre los principales inconvenientes del empleo de esta combinación, destacan (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002; Sinclair, 2003; Plumb, 2005; Gunkel y Lafortune, 2007):

- A nivel cardiovascular: vasoconstricción periférica, bradicardia o bradiarritmias (bloqueos aurículo-ventriculares), hipertensión, disminución del gasto cardíaco.
- A nivel respiratorio: disminución de la frecuencia respiratoria, disminución del volumen tidal.
- A nivel digestivo: vómitos durante el período de inducción anestésica.
- A nivel genito-urinario: aumento de la producción de orina.
- A nivel sensorial: incremento de la sensibilidad a los ruidos.

Aunque la depresión respiratoria e incluso apnea transitoria es más pronunciada durante los minutos siguientes a la inducción, la administración de oxígeno o el empleo de atipamezol, suelen ser suficientes para revertir esta condición clínica (Gunkel y Lafortune, 2007).

En panteras nebulosa salvajes del continente asiático no se ha empleado hasta el momento esta combinación. Solo encontramos descrito el uso de medetomidina y ketamina en panteras mantenidas en cautividad (Fletchall, 2000). Tampoco se ha descrito el uso de estos fármacos en pantera nebulosa Sunda.

1.8. Hematología y bioquímica sérica en felinos salvajes de Borneo.

La hematología y bioquímica sérica son dos herramientas clínicas y diagnósticas fundamentales para la detección de cualquier anomalía fisiológica (Jani y Sabapara, 2010).

Son herramientas de gran utilidad en el cuidado de animales salvajes en cautividad, ya que aportan valiosa información sobre el estado de salud de los individuos, y en el caso de especies amenazadas, representan una información de referencia en programas de cría en cautividad, donde una base de datos hematológicos puede ser utilizado para comparar el estado fisiológico entre la población cautiva y la población salvaje (Beltrán *et al.*, 1991; Marco *et al.*, 2000).

En la actualidad no existen valores de referencia para muchas de las especies amenazadas. Por esta razón a menudo se comparan los parámetros hematológicos y bioquímicos de una especie salvaje con su pariente más cercano doméstico o con poblaciones cautivas de la misma especie, ya que se cree que estos parámetros sanguíneos son normalmente similares entre individuos cautivos e individuos salvajes (Fuller *et al.*, 1985; Moen *et al.*, 2010). Muchas veces resulta difícil el comparar datos con los valores de referencia existentes solamente debido a las diferencias encontradas en los diseños de estudio (Kocan *et al.*, 1981). Además existen determinadas condiciones que van a afectar los valores de la hematología y la bioquímica sanguíneas, como factores fisiológicos de los individuos (estado de salud, condición general de los individuos, sexo, edad, comportamiento y actitud de los individuos), factores técnicos (método de captura empleado y como se ha llevado a cabo, tipo de anestesia utilizado, método de obtención de las muestras) y factores asociados con la ecología de los individuos (hábitat, estacionalidad) (Seal *et al.*, 1972; Moen *et al.*, 2010).

La tabla 4 representa alguna de las diferencias encontradas en los parámetros hematológicos y bioquímicos de determinadas especies de felinos en relación con alguno de los factores mencionados anteriormente (Currier y Russell, 1982; Dunbar *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 1999; Marco *et al.*, 2000; García *et al.*, 2010; Moen *et al.*, 2010; Widmer *et al.*, 2012; Chege *et al.*, 2013).

Especie	Sexo	Edad	Origen (cautivos/salvajes)
Jaguar (<i>Panthera onca</i>)	<i>Machos</i> : monocitos más elevados <i>Hembras</i> : creatinina cinasa y AST más elevados	N/D	<i>Salvajes</i> : elevados recuentos de glóbulos blancos totales, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos
Puma (<i>Puma concolor</i>)	<i>Machos</i> : globulinas séricas más elevadas	N/D	<i>Salvajes</i> : Hematocrito, AST, CK, LDH más elevados. <i>Cautivos</i> : Colesterol más elevado
Pantera de Florida (<i>Puma concolor coryi</i>)	N/D	<i>Adultos</i> : más elevados proteínas totales y hematocrito <i>Juveniles</i> : más elevada albumina y calcio	N/D
Lince de Canadá (<i>Lynx canadensis</i>)	No diferencias significativas (Moen <i>et al.</i> , 2010)	<i>Juveniles</i> : elevados fósforo y fosfatasa alcalina	<i>Salvajes</i> : elevados ALT, urea y AST
Lince Ibérico (<i>Lynx pardinus</i>)	<i>Machos</i> : elevado creatinina cinasa <i>Hembras</i> : elevada albumina	<i>Juveniles</i> : elevadas fosfatasa alcalina y LDH <i>Adultos</i> : elevadas creatinina y GGT	<i>Cautivos</i> : elevados hierro, calcio, fosfatasa alcalina y creatinina <i>Salvajes</i> : elevados AST, ALT
Lince rojo (<i>Lynx rufus</i>)	<i>Machos</i> : más elevado recuento de glóbulos blancos, proteínas totales, potasio, urea, fosfatasa alcalina y fosforo. <i>Hembras</i> : más elevada hemoglobina corpuscular media y creatinina.	<i>Cachorros</i> : más elevado recuento de glóbulos blancos. <i>Juveniles</i> : más elevado sodio, potasio, proteínas totales, albumina, globulina y calcio	N/D
Gato montés (<i>Felis silvestris</i>)	<i>Hembras</i> : más elevados albúmina, cociente albumina/globulina y eosinófilos <i>Machos</i> : más elevado neutrófilos	N/D	N/D
Gato del desierto (<i>Felis margarita</i>)	<i>Machos</i> : más elevado AST <i>Hembras</i> : proteínas totales, creatinina y glucosa más elevadas en hembras	N/D	N/D

Tabla 4. Parámetros hematológicos y bioquímicos dependiendo del sexo, edad u origen de los individuos, encontrados en diferentes especies de felinos salvajes (adaptado de Currier y Russell, 1982; Dunbar *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 1999; Marco *et al.*, 2000; García *et al.*, 2010; Moen *et al.*, 2010; Widmer *et al.*, 2012; Chege *et al.*, 2013). N/D: No disponible. AST: Aspartato Aminotransferasa; CK: Creatina quinasa; LDH: Lactato deshidrogenasa; GGT: Gamma Glutamyl Transpeptidasa; ALT: Alanino Aminotransferasa

En la actualidad no existen intervalos de referencia para la pantera nebulosa Sunda o para el gato leopardo de Borneo, pero si se encuentran valores de referencia para hematología y bioquímica sérica de la pantera nebulosa continental y del gato leopardo mantenidos en cautividad en el Sistema de Información Internacional de Especies (International Species Information System – ISIS). ISIS mantiene una base de datos electrónica de animales mantenidos en instituciones zoológicas, donde las instituciones que son miembro de este sistema proveen datos genéticos y de salud de sus individuos (Teare, 2002). (Tablas 5 y 6).

Parámetro	n	Media±DE	Rango
Eritrocitos (x10 ⁶ /μl)	14	8.65±2.08	6.25-14.50
Hematocrito (%)	14	42±8	29-63
Hemoglobina (g/dl)	14	14.1±2.4	10.9-19.2
VCM (fl)	14	49.4±3.5	41.8-54.4
HCM (pg)	14	16.4±2.6	10.3-20.1
CHCM (g/dl)	14	33.7±5.2	23.4-43.6
Plaquetas (10 ⁶ /μl)	9	0.27±0.27	0.39-1.04
Leucocitos (10 ³ /μl)	13	7.97±3.55	3.30-18.5
Neutrófilos en banda (10 ³ /μl)	4	1.11±2.02	0.04-4.16
Neutrófilos segmentados (10 ³ /μl)	10	3.23±1.78	0.35-6.82
Linfocitos (10 ³ /μl)	11	3.27±1.75	0.92-7.55
Monocitos (10 ³ /μl)	9	0.20±0.14	0.06-0.59
Eosinófilos (10 ³ /μl)	9	0.19±0.17	0.03-0.55
Calcio (mg/dl)	10	10±1.12	8.20-11.72
Fósforo (mg/dl)	8	5.02±2.11	1.49-8.79
Sodio (mEq/l)	9	153±3	148-159
Potasio (mEq/l)	13	4.2±0.6	3.4-5.3
Cloro (mEq/l)	9	118±4	112-126
Urea (mg/dl)	12	34.01±10.98	21.99-58.01
Creatinina (mg/dl)	11	1.4±0.3	0.9-1.79
Ácido Úrico (mg/dl)	1	0.07±0.00	0.07-0.07
Bilirrubina total (mg/dl)	10	0.05±0.02	0.02-0.11
Glucosa (mg/dl)	10	181.08±77.83	97.83-396.93
Colesterol (mg/dl)	11	74.59±24.68	31.17-132.43
Triglicéridos (mg/dl)	2	11.35±3.78	8.83-15.86
CK (UI/l)	2	1318±1099	72-2150
LDH (UI/l)	7	260±146	77-538
FA (UI/l)	11	38±24	9-77
ALT (UI/l)	12	51±26	16-106
AST (UI/l)	12	46±22	20-95
GGT (UI/l)	2	2±2	0-3
Amilasa (UI/l)	2	89.54±4.07	86.58-92.32
Lipasa (UI/l)	1	13.34±0.00	13.34-13.34
Proteínas Totales (g/dl)	10	7.3±0.9	6.3-9.0
Albumina (g/dl)	10	4.0±0.7	2.8-5.1
Globulina (g/dl)	10	3.4±0.6	2.6-4.2

Tabla 5. Valores de referencia para hematología y bioquímica sérica en gato leopardo (*Prionailurus bengalensis*) en cautividad (adaptado de Teare, 2002). DE: desviación estándar.

Parámetro	n	Media± DE	Rango
Eritrocitos (10 ⁶ /μl)	119	6.96±1.29	3.91-12.60
Hematocrito (%)	153	37±5	23-54
Hemoglobina (g/dl)	152	11.9±2.1	6.7-19.6
VCM (fl)	111	53.3±6.1	30.2-81.7
HCM (pg)	116	17.7±1.9	11.5-30.7
CHCM (g/dl)	146	32.6±3.5	19.1-52.8
Plaquetas (10 ⁶ /μl)	32	0.32±0.13	0.10-0.90
Leucocitos (10 ³ /μl)	157	12.90±4.08	5.51-30.40
Neutrófilos en banda (10 ³ /μl)	84	0.49±0.98	0-8.51
Neutrófilos segmentados (10 ³ /μl)	134	9.82±3.56	0.05-22.50
Linfocitos (10 ³ /μl)	140	1.74±1.25	0.01-8.92
Monocitos (10 ³ /μl)	131	0.41±0.30	0-2.17
Eosinófilos (10 ³ /μl)	125	0.62±0.58	0-3.86
Calcio (mg/dl)	144	10±0.72	8.20-12.20
Fósforo (mg/dl)	138	5.79±1.30	3-10.5
Sodio (mEq/l)	136	152±4	140-165
Potasio (mEq/l)	144	4.2±0.4	2.9-6.4
Cloro (mEq/l)	124	119±4	108-132
Magnesio (mEq/l)	13	0.81±0.06	0.69-1.02
Urea (mg/dl)	160	25.99±8.99	8.99-68.01
Creatinina (mg/dl)	158	1.69±0.8	0-8.2
Ácido Úrico (mg/dl)	71	0.18±0.18	0-0.18
Bilirrubina total (mg/dl)	148	0.3±0.33	0-14
Glucosa (mg/dl)	155	120.9±35.85	38.91-309
Colesterol (mg/dl)	146	70.45±17.11	35.31-133.87
Triglicéridos (mg/dl)	108	8.64±5.04	2.52-31.89
CK (UI/l)	85	395±290	45-1743
LDH (UI/l)	77	542±887	33-6829
FA (UI/l)	155	86±127	2-885
ALT (UI/l)	144	85±67	9-436
AST (UI/l)	157	36±22	7-159
GGT (UI/l)	77	5±4	0-19
Amilasa (UI/l)	62	161±81.4	48.66-462.5
Lipasa (UI/l)	31	6.39±4.17	0-17.79
Proteínas Totales (g/dl)	139	7.1±0.7	5.2-9.8
Albúmina (g/dl)	126	3.5±0.6	2.1-5.4
Globulina (g/dl)	127	3.5±0.5	2.2-5.4
Cortisol (nmol/l)	1	739±0	0-739

Tabla 6. Valores de referencia para parámetros hematológicos y bioquímicos en pantera nebulosa continental (*Neofelis nebulosa*) en cautividad (adaptado de Teare, 2002).

1.9. Respuesta de estrés durante captura y manejo. Efectos sobre la hematología y bioquímica sérica.

La captura y el manejo de carnívoros salvajes es probablemente, una de las situaciones más estresantes que estos animales pueden experimentar (Nielsen, 1999).

El estrés es sin duda uno de los conceptos más problemáticos de definir en biología y en la actualidad, las teorías modernas lo definen simplemente como “un estado en el que se pierde la homeostasis” (Reeder y Kramer, 2005). De cualquier manera, la causa del estrés es conocido como factor estresante, y es definido como un estímulo percibido como amenaza para el individuo (Ladewig, 1987; Moberg, 1987). Estos estímulos pueden ser clasificados en psíquicos (aquellos que afectan a la conducta o comportamiento del individuo) o físicos, que a su vez se dividen en internos (como hipoglucemia) o externos (como frío, calor u otros estímulos nocivos localizados fuera del individuo). La respuesta que se produce en el individuo ante estos estímulos para reestablecer la homeostasis es conocida como respuesta de estrés. Esta respuesta consta de una serie de mecanismos fisiológicos y comportamentales que servirán para neutralizar los efectos de estos estímulos estresantes (Reeder y Kramer, 2005). No todos los animales van a iniciar una respuesta de estrés ante un mismo estímulo, puesto que los individuos percibirán un estímulos como estresantes o no dependiendo de las características del estímulo como de las características del propio individuo (Ladewig, 1987; Wiepkema y Kolhaas, 1993).

La respuesta de estrés consiste en una cascada de reacciones iniciada a partir de la liberación de la hormona liberadora de corticotropina por parte del núcleo paraventricular del hipotálamo y del núcleo central de la amígdala. Existen dos componentes en la respuesta de estrés, el componente comportamental/emocional (en el que se activan conductas como escape, huida, o se suprimen comportamientos relacionados con la alimentación y reproducción) y el componente fisiológico, en el que se activan el sistema nervioso simpático (eje simpático adreno-medular) y el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (o eje hipofisario-adrenocortical) (Moberg, 1987; Holst, 1998; Reeder y Kramer, 2005).

Selye (1946) caracterizó la respuesta de estrés en 3 fases, que actualmente se ha denominado síndrome de adaptación generalizado: fase de alarma, donde se produce la estimulación del sistema nervioso simpático, fase de resistencia, donde se activa el eje hipofisario-adrenocortical, y fase de agotamiento, donde los niveles de glucocorticoesteroides liberados por la glándula adrenal permanecen elevados.

La estimulación del sistema nervioso simpático lleva consigo la liberación de catecolaminas norepinefrina y epinefrina. La norepinefrina es liberada por los nervios periféricos (neuronas simpáticas posganglionares) y la epinefrina por la médula adrenal. Ambas catecolaminas son responsables del incremento en la excitación del individuo, aumento en la frecuencia cardíaca e incremento de la lipólisis y gluconeogenesis que proporcionarán la energía al individuo durante el episodio de estrés (Reeder y Karmar, 2005).

En el eje hipofisario-adrenocortical, la hormona liberadora de corticotropina se desplaza hasta la adeno-hipófisis produciendo liberación de la hormona corticotropina u hormona adrenocorticotropa. La corticotropina se libera a corriente circulatorio donde viaja hasta la corteza de la glándula adrenal, provocando la secreción de glucocorticoesteroides (cortisol, corticoesterona o ambos, dependiendo de la especie) (Guyton y Hall, 2000; Reeder y Kramer, 2005).

Los glucocorticoesteroides juegan un papel relevante en el metabolismo del individuo tanto en condiciones basales como en situaciones de estrés. En general, sirven para incrementar la energía mediante un aumento en la gluconeogenesis, inhibición de la captación de glucosa, aumento de la síntesis de triglicéridos, movilización de grasas desde los tejidos de reserva o estimulación de la síntesis de proteínas en el hígado (Verde y Gascón, 1987). Esta liberación de glucocorticoesteroides muestra una función adaptativa tras la presentación del estímulo estresante, aunque la exposición prolongada a los glucocorticosteroides (fase de agotamiento del síndrome de adaptación) puede tener efectos nocivos en el individuo como hiperglucemia, resistencia a la insulina, retraso en la cicatrización, atrofia muscular, inhibición del crecimiento o inhibición del sistema inmune.

En la respuesta de estrés la liberación de hormona liberadora de corticotropina, epinefrina o norepinefrina ocurre casi de manera instantánea tras la percepción del estímulo estresante por el individuo. La liberación de hormona corticotropina y el aumento en los niveles de los glucocorticoesteroides puede tardar hasta varios minutos y estos niveles elevados pueden permanecer así durante periodos de tiempo más largos. Este desfase de tiempo en la liberación de los diferentes componentes de la respuesta de estrés asegura que el individuo pueda redirigir su balance energético y su comportamiento, dependiendo de si tiene que enfrentarse a un estímulo estresante inmediato (que dure segundos o minutos) o si se tiene que enfrentar a estímulos que puedan llegar a convertirse en estresantes tras un periodo de tiempo más prolongado (Reeder y Kramer, 2005).

Para la captura de felinos salvajes no solo es indispensable conocer que método es el más eficaz, sino también cual método es el más seguro desde el punto de vista fisiológico del animal. Determinadas especies de carnívoros silvestres son eficazmente capturadas mediante lazos y cepos acolchados, aunque estos métodos pueden suponer una seria amenaza para la integridad física de los individuos (Mowat *et al.*, 1994). Por otra parte, la captura de felinos salvajes mediante el uso de cajas-trampa puede ser igualmente eficaz y seguro para determinadas especies (Kolbe *et al.*, 2003), no siendo lo más adecuado para otras por el riesgo de fractura de caninos al intentar morder el esqueleto metálico de la jaula-trampa (Furtado *et al.*, 2008).

A pesar del uso de diferentes métodos, los efectos de la captura sobre la fisiología de los felinos capturados siguen sin estar bien definidos. Los procedimientos de captura pueden dar lugar a altos niveles de ansiedad, auto- lesiones o incluso puede dar lugar a agotamiento con consecuencias mortales (Fernández-Morán, 2003). La miopatía de captura debe ser considerada como uno de los aspectos más importantes que deben tenerse en cuenta durante la captura y manejo de animales silvestres, y aunque es más común encontrar esta condición en ungulados, también se ha descrito en carnívoros tras procedimientos de captura e inmovilización química (Williams y Thorne, 1998; Cattet *et al.*, 2008).

Para estudiar las alteraciones fisiológicas durante los procedimientos de captura y manejo de especies salvajes, determinados autores han propuesto parámetros hematológicos y de bioquímica sérica como indicadores de estrés. Los más utilizados son: hemoglobina, eritrocitos , leucocitos, alanina aminotransferasa , fosfatasa alcalina , lactato deshidrogenasa , aspartato aminotransferasa, la creatina cinasa, siendo consideradas como indicadores de daño muscular el aumento de estas últimas cuatro enzimas séricas intracelulares (Kreeger *et al.*, 1990b; White *et al.*, 1991; Nielsen, 1999; Fernández-Morán, 2003; Cattet *et al.*, 2008).

De entre las hormonas, el cortisol plasmático ha sido empleado como un indicador fidedigno para medir estrés en fauna silvestre y su valor, junto con otras variables de la fórmula sanguínea, resultan ser el mejor método para la valoración de estrés en estos individuos (Harlow *et al.*, 1987; Parrot *et al.*, 1994; Hatting, 1992; Morton *et al.*, 1995; Read *et al.*, 2000; Fernández-Morán, 2003).

Existen además otros indicadores fisiológicos comúnmente utilizados para la valoración de la respuesta de estrés como son la frecuencia cardíaca y la temperatura. Ante un estímulo estresante la frecuencia cardíaca se incrementa debido a la liberación de catecolaminas y además se producirá un incremento en la temperatura corporal (denominado hipertermia inducida por estrés), debido a la activación del sistema nervioso simpático y del eje hipotálamo-hipofisiario-adrenocortical (Groenink *et al.*, 1994). También hay que tener en cuenta que cambios en la frecuencia cardíaca así como incrementos en la temperatura corporal pueden ir ligados a un aumento en la actividad física sin necesidad de la presencia de estrés (Broom y Johnson, 1993).

Mientras que el estrés ha sido objeto de estudio en algunas especies no domésticas durante captura y manejo en condiciones de libertad, son pocas las referencias bibliográficas que detallan el efecto fisiológico por la captura y manejo en carnívoros salvajes, y más concretamente en felinos (Kreeger *et al.*, 1990b; White *et al.*, 1991).

Efectos del estrés sobre el hemograma

Los métodos físicos de captura van a originar una respuesta de estrés en el individuo que será responsable de determinados cambios en el hemograma. Las catecolaminas epinefrina y norepinefrina liberadas tras la estimulación del sistema nervioso simpático, van a producir contracción de la musculatura lisa del bazo. Esta contracción esplénica es la responsable de la liberación al torrente sanguíneo de sangre almacenada en el bazo con un alto hematocrito (hematocrito = 80%). Esta redistribución de eritrocitos es común en felinos domésticos tras períodos de excitación (Jain, 1993; Brockus, 2011). En el hemograma observaremos alteraciones propias de una policitemia relativa, con aumentos del hematocrito, recuento total de eritrocitos y concentración de hemoglobina. Esta condición puede ser observada también en casos en los que el individuo sufra de deshidratación (Brockus, 2011).

Se han descrito ciertos cambios en el hemograma durante la inmovilización química. La disminución en el hematocrito, recuento total de eritrocitos y en la concentración de hemoglobina han sido descritos durante la inmovilización química debido a la hemodilución, por expansión del volumen plasmático y debido al secuestro de eritrocitos en el bazo por efecto de los fármacos (Seal *et al.*, 1972; Kocan *et al.*, 1981; Cross *et al.*, 1988; Chapple *et al.*, 1991).

La serie blanca también puede sufrir alteraciones durante la respuesta de estrés. La liberación de epinefrina tras la estimulación del sistema nervioso simpático en respuesta al miedo o excitación va a ser la responsable de la leucocitosis y neutrofilia observada en el leucograma. Se puede observar neutrofilia causada por la movilización y redistribución de neutrófilos del pool marginal a circulación por el incremento en la frecuencia cardíaca y en la presión sanguínea. Esta neutrofilia se acompaña de linfocitosis, que puede ser originada por la epinefrina al bloquear los receptores de células endoteliales de las vénulas postcapilares en los nódulos linfáticos. Este bloqueo de los receptores va a alterar el patrón normal de recirculación y va a evitar que los linfocitos del torrente sanguíneo entren de nuevo en el tejido linfático. También se postula que la epinefrina pueda provocar la liberación de linfocitos, posiblemente provenientes del conducto torácico, a la circulación general (Webb y Latimer, 2011).

La liberación de glucocorticoesteroides tras la activación del eje hipotálamo-adrenocortical en la respuesta de estrés puede causar también cambios en el leucograma como neutrofilia, linfocitopenia, monocitosis y eosinopenia.

La neutrofilia en este caso es producida por varios mecanismos (Jain, 1993; Young, 2000; Webb y Latimer, 2011):

- Disminución de los neutrófilos que emigran desde la circulación a los tejidos
- Incremento de la liberación de neutrófilos por la médula ósea.
- Movimiento de neutrófilos desde el pool marginal al circulatorio

La linfocitopenia es causada por una redistribución de los linfocitos circulantes, que permanecen secuestrados de manera transitoria en el tejido linfoide y en la médula ósea en lugar de entrar al torrente circulatorio o al torrente linfático (Webb y Latimer, 2011).

La eosinopenia puede ser originada por un secuestro de los eosinófilos en los tejidos (hígado y bazo), por la inhibición en su liberación por la médula ósea o por inhibición de citoquinas responsables del desarrollo de eosinófilos y que inducen apoptosis (Smith, 2000; Young, 2000; Webb y Latimer, 2011).

La monocitosis puede ser observada debido a movilización de los monocitos del pool marginal al circulatorio (Webb y Latimer, 2011).

El recuento de plaquetas también puede ser alterado por la respuesta de estrés tras la activación del sistema nervioso simpático. La liberación de epinefrina puede originar contracción esplénica, que incrementa el recuento plaquetario, puesto que el bazo puede llegar a contener hasta el 40% de plaquetas circulantes (Jain, 1993; Boudeaux *et al.*, 2011).

Efectos del estrés sobre la bioquímica sérica.

Hormonas

Los glucocorticoesteroides cortisol y corticoesterona son de los indicadores de estrés más frecuentemente medidos en vertebrados (Wingfield *et al.*, 1997; Baker *et al.*, 2013). Mientras que el cortisol es el principal glucocorticoesteroide de peces y de la mayoría de mamíferos, la corticoesterona es el principal de aves, anfibios, reptiles y roedores (Cockrem, 2013).

Aunque el cortisol se mide normalmente en plasma, también puede medirse en saliva y orina. Actualmente la determinación de metabolitos de cortisol en heces está ganando más importancia en biología de la conservación, manejo de vida salvaje o estudios ecológicos ya que no es necesario capturar a los individuos (Mostl y Palme, 2002).

Aunque el cortisol es un indicador fidedigno de la respuesta de estrés y ha sido ampliamente utilizado, se ha observado que aumentos en la concentración de esta hormona no aparecen con todos los estímulos estresantes (Terlouw *et al.*, 1997). Además, los glucocorticoesteroides de muchas especies presentan ritmos circadianos, y estos ritmos incluso pueden desaparecer tras períodos de estrés prolongados (Przkop *et al.*, 1985).

También el método de muestreo puede llevar a cabo elevaciones en el cortisol, puesto que la toma de muestras siempre va unido a una situación estresante para el individuo, como confinamiento o manipulación. Para paliar este problema, algunos investigadores han desarrollado dispositivos electrónicos para toma de muestras que funcionan a distancia, evitando la captura y manejo del individuo (Cook *et al.*, 2000).

Enzimas séricas

Se han descrito elevaciones de determinadas enzimas séricas como indicador de daño muscular y de estrés durante la captura y manejo de fauna silvestre (Nielsen, 1999).

- Creatina quinasa (CK): esta enzima es crítica para la producción de energía muscular. Es una enzima citosólica que presenta su actividad más alta en músculo esquelético, músculo cardíaco y cerebro. La inmensa mayoría de CK sérica tiene origen muscular, haciendo de esta enzima una de las más específicas. Es la enzima de elección para detectar daño muscular esquelético. La vida media plasmática de la CK es corta, por lo que se recomienda un procesamiento rápido de las muestras. Además, aunque los eritrocitos contienen poca CK, en caso de muestras hemolizadas, la CK puede encontrarse falsamente elevada. En el gato doméstico debido a su menor masa muscular, valores levemente elevados de esta enzima son considerados más significativos, aunque en gatos anoréxicos se han encontrado valores elevados de CK sin otro tipo de alteración muscular. La venipunción o las inyecciones intramusculares, así como fármacos irritantes (como por ejemplo la ketamina) pueden incrementar la actividad de esta enzima (Hall y Bender, 2011).

- Aspartato aminotransferasa (AST): esta enzima está presente en casi todas las células, incluyendo a los eritrocitos. La actividad sérica de esta enzima no es específica de ningún tejido, aunque el hígado y el músculo son considerados como el origen principal. Su vida media plasmática es más larga que la vida media plasmática de la CK. Al igual que ocurre con la CK, la hemólisis de la muestra puede dar lugar a valores falsamente elevados (Kramer y Hoffman, 1997; Hall y Bender, 2011).

-Alanino aminotransferasa (ALT): es una enzima citosólica. Es considerada específica de hígado en carnívoros domésticos, aunque su actividad se puede incrementar con el daño muscular en estas especies. En caballos, ovejas y cerdos, sin embargo, esta enzima es considerada específica del músculo, siendo la actividad hepática muy baja en estas especies. Su vida media plasmática es más larga que en las anteriores (Kramer y Hoffman, 1997).

- Lactato deshidrogenasa (LDH): es una enzima citosólica presente en todos los tejidos. Valores elevados de LDH tienen usualmente su origen en el músculo, hígado y eritrocitos. Es considerada de menos utilidad en comparación con la AST y CK debido a su falta de especificidad y debido también a que su actividad puede encontrarse falsamente elevada en casos de hemólisis leve (Bush, 1991; Hall y Bender, 2011). Durante la captura de determinadas especies de carnívoros silvestres, el aumento de esta enzima, junto AST and CK ha corroborado el diagnóstico de rabdomiolisis (Kreeger *et al.*, 1990b).

- Aldolasa (Aldolasa A): es una isoenzima citosólica utilizada en la investigación de desórdenes musculo-esqueléticos. Presenta poca utilidad clínica debido a su poca sensibilidad diagnóstica (en comparación con la CK) y dificultad para ser medida de forma rutinaria en laboratorios (Hall y Bender, 2011).

- Fosfatasa Alcalina (FA): es una enzima no específica que se puede encontrar en hígado, hueso, intestino o placenta. También puede encontrarse como isoenzima inducida por corticoesteroides, donde la administración de corticoides exógenos o la elevación de corticoesteroides endógenos puede dar lugar a un valor elevado de esta enzima, como se ha visto tras la captura de cánidos silvestres con ceos (Kreeger *et al.*, 1990b; White *et al.*, 1991). En felinos se cree que este tipo de isoenzima inducida por corticoesteroides no presenta ninguna actividad (Fernández y Kidney, 2007).

Proteínas totales

Las proteínas plasmáticas tienen una función nutritiva, participan en el mantenimiento de la presión osmótica coloidal, en procesos inflamatorios, inmunológicos y de coagulación y ayudan en el mantenimiento del equilibrio ácido-base (Evans, 2011). La concentración de proteínas puede verse alterada por diversos factores como edad, gestación, lactación, estado de salud, hormonas de efecto catabólico (cortisol) o como resultado del proceso de captura e inmovilización química, y en la presión sanguínea, presión osmótica coloidal, circulación linfática o hemodilución (Seal *et al.*, 1972; Peinado *et al.*, 1993; Kaneko, 1997). Algunos autores han utilizado un incremento en la proteínas totales, en la albúmina o en el cociente albúmina/globulina como indicadores de deshidratación durante un confinamiento prolongado y/o actividad intensa en procesos de captura en carnívoros salvajes (Powell, 2005; Cattet *et al.*, 2008; Marks, 2010).

Metabolitos

- Lactato: es un metabolito de desecho de la glicolisis anaerobia producido principalmente por músculo esquelético, eritrocitos, cerebro, piel y médula renal. Este metabolito se ha visto aumentado en determinadas miopatías de carnívoros domésticos. Su valor puede aumentar también en caso de forcejeo durante el manejo de un individuo no anestesiado durante la venipunción, al incrementar la actividad muscular (Hall y Bender, 2011).

- Urea: es un metabolito de desecho que resulta del catabolismo de las proteínas. La vía más importante de excreción de urea es el riñón, aunque en menor medida se puede excretar por saliva, tracto digestivo o sudor. Aunque este metabolito ha sido vinculado con estrés de captura en ungulados silvestres, su papel no ha sido demostrado como indicador de estrés en carnívoros (Kock *et al.*, 1987; Wolkers *et al.*, 1994; Tripathi *et al.*, 2011). Se han descrito aumentos en la concentración de urea durante la captura de osos mediante lazos, probablemente debido al efecto de la deshidratación agravado por el ejercicio intenso para intentar escapar (Cattet *et al.*, 2008).

- Creatinina: es un compuesto originado endógenamente por la conversión no enzimática de creatina, la cual almacena energía en el músculo en forma de fosfocreatina. Se excreta principalmente por el riñón, aunque una muy pequeña parte lo es por el sistema digestivo. Una disminución en la creatinina sérica puede ser debida a alguna enfermedad muscular y debilidad generalizada y su aumento ha ido ligado a enfermedad renal. También se han visto en caso de rabdomiolisis. Los machos típicamente presentan valores más elevados de creatinina que las hembras (Tripathi *et al.*, 2011).

- Glucosa: la glucosa sanguínea se obtiene por diferentes fuentes: dieta, glucogenólisis, y gluconeogénesis. En la respuesta de estrés las catecolaminas liberadas van a favorecer la glucogenólisis en los hepatocitos y en los miocitos. El cortisol liberado en la respuesta de estrés va a beneficiar el desarrollo de la glucogenólisis, aumentando también la glucosa en sangre. En gatos, la concentración de glucosa puede incrementarse hasta los 300 mg/dl debido a estrés (Evans, 2011). Esta condición también ha sido observada en otras especies de felinos salvajes durante procedimientos de captura (Marco *et al.*, 2000; García *et al.*, 2010).

- Colesterol: es un lípido plasmático que actúa como precursor de hormonas esteroideas, de los ácidos biliares y de la vitamina D (Bruss, 1997). No existe consenso en cuanto a su relación con el estrés producido en procedimientos de captura de animales (Franzmann y Thorne, 1970; Seal y Hoskinson, 1978; Kocan *et al.*, 1981; Peinado *et al.*, 1993).

- Triglicéridos: junto con el colesterol, es otro de los lípidos plasmáticos en los que no se ha podido comprobar su vinculación con la respuesta de estrés durante la captura y manejo de individuos salvajes (Seal y Hoskinson, 1978; Kocan *et al.*, 1981; Peinado *et al.*, 1993).

- Bilirrubina: la bilirrubina es un pigmento producido por la degradación del grupo hemo de la hemoglobina y de la mioglobina, y en menor medida por la degradación de porfirinas (Bain, 2011). Se han descrito valores elevados de bilirrubina en determinadas especies de carnívoros capturados con cepos (Kreeger *et al.*, 1990b).

Electrolitos

- Sodio: es un electrolito extracelular que mantiene la osmolaridad del líquido extracelular y es esencial en el control del estado de hidratación. En carnívoros domésticos se ha descrito hiponatremia como consecuencia del ejercicio intenso (Wright George y Zabolotzky, 2011). La absorción de sodio por los túbulos renales proximales por acción de las catecolaminas durante el estrés de la captura, puede llevar a cabo un incremento del sodio sérico (Kocan *et al.*, 1981). En comparación con diferentes métodos de captura de carnívoros silvestres, los lazos producen un aumento más significativo de sodio (Cattet *et al.*, 2008; Marks, 2010).

- Potasio: es un electrolito que se encuentra mayoritariamente en el líquido intracelular. Aunque es más común observar elevaciones de este electrolito en desequilibrios ácido base, también es posible observar hiperpotasemia en casos en los que se produzca un degeneración o necrosis muscular (Hall y Bender, 2011). En casos de ejercicio intenso, como en perros de carreras, se puede desarrollar hipopotasemia aunque no se conoce, en estos casos, la ruta de eliminación (Wright George y Zabolotzky, 2011).

- Cloro: es el principal anión del líquido extracelular y un componente muy importante de muchas secreciones (gástrica, saliva, sudor) (Wright George y Zabolotzky, 2011). Sus niveles se han encontrado más elevados en animales capturados físicamente que en aquellos inmovilizados químicamente (Peinado *et al.*, 1993). En carnívoros, el uso de lazos como método de captura puede provocar niveles más elevados de cloro que cuando se emplean jaulas-trampa (Marks, 2010).

2. OBJETIVOS

Genéricamente el presente estudio fue diseñado para aumentar el conocimiento sobre el manejo veterinario de la pantera nebulosa Sunda y continental y del gato leopardo de Borneo, para ayudar en posteriores programas de conservación *ex-situ* e *in-situ*. Los objetivos específicos para lograr esta finalidad son los siguientes:

1. Determinar la eficacia y seguridad de protocolos anestésicos en pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*) salvajes y cautivas, empleando combinaciones anestésicas de medetomidina y ketamina o de tiletamina y zolacepam, que sirvan para establecer procedimientos anestésicos seguros para la especie en programas de conservación tanto *in-situ* como *ex-situ*.
2. Determinar protocolos anestésicos para gatos leopardo de Borneo (*Prionailurus bengalensis borneoensis*) salvajes usando una combinación de tiletamina y zolacepam, suplementada o no con ketamina, valorando la eficacia y seguridad para su empleo en esta especie en programas de conservación *in-situ*.
3. Determinar la hematología y bioquímica sérica de panteras nebulosas Sunda en cautividad y en libertad para contribuir a la creación de valores de referencia para la especie.
4. Determinar las alteraciones en la bioquímica sérica en gatos leopardo de Borneo recién capturados mediante cajas trampa para valorar la respuesta fisiológica y de estrés en los individuos.
5. Al no existir un programa de cría en cautividad para la pantera nebulosa Sunda, este estudio pretende determinar el patrón de crecimiento de cachorros nacidos en cautividad de la especie mas cercana filogenéticamente a la pantera nebulosa Sunda, la pantera nebulosas continental (*Neofelis nebulosa*). Determinando el patrón de crecimiento para cachorros de esta especie se procura conseguir una herramienta de ayuda diagnóstica en la identificación de problemas médicos relacionados con el crecimiento y desarrollo de los cachorros durante el manejo de ambas especies en programas de conservación *ex-situ*.

3. MATERIAL Y MÉTODOS


Esta sección es separada en dos sub-secciones, debido a que los estudios tuvieron lugar *in-situ* y *ex-situ*.

3.1. Programas de conservación *in-situ*.

Para llevar a cabo el estudio anestésico y hematológico en panteras nebulosas Sunda y en gatos leopardo de Borneo salvajes, el programa de investigación se localizó en Sabah, estado malayo del norte de Borneo. Las capturas de los individuos tuvieron lugar en tres localizaciones diferentes (figura 9):

- Área de Conservación de Danum Valley
- Reserva Forestal de Ulu Segama
- Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo



Figura 9. Las áreas de captura están representadas por el siguiente símbolo: 

Las capturas de gatos leopardo de Borneo tuvieron lugar en la Reserva Forestal de Ulu Segama entre Mayo de 2008 y Mayo de 2009. Las capturas de panteras nebulosas Sunda tuvieron lugar en el Área de Conservación de Danum Valley y USFR, entre Diciembre de 2007 y Mayo de 2009.

Nuestro trabajo de capturas en el Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo para gatos leopardo de Borneo y panteras nebulosas Sunda tuvo lugar entre Octubre de 2012 y Marzo de 2014. En este santuario las capturas se centraron en los bloques forestales 5 y 6 (denominados “lote 5” y “lote 6”). La presencia de pantera nebulosa Sunda en este santuario ha sido constatada por estudios de diferentes investigadores (Matsuda *et al.*, 2008; Goossens y Ambu, 2012).

El “Lote 6” es un fragmento forestal de 26,73 km² rodeado completamente por plantaciones de palma. En este lote es donde se encuentra el centro de campo “Danau Girang Field Centre” que es el que nos sirvió como centro logístico. El “Lote 5” ocupa una extensión de 74,21 km² y es adyacente con la reserva forestal de Gomontong (45,39 km²) y se conecta además con el “Lote 7” de 10,27 km², el cual a su vez está unido a la reserva de tala forestal de Pin Supu (26,96 km²) (figura 10).

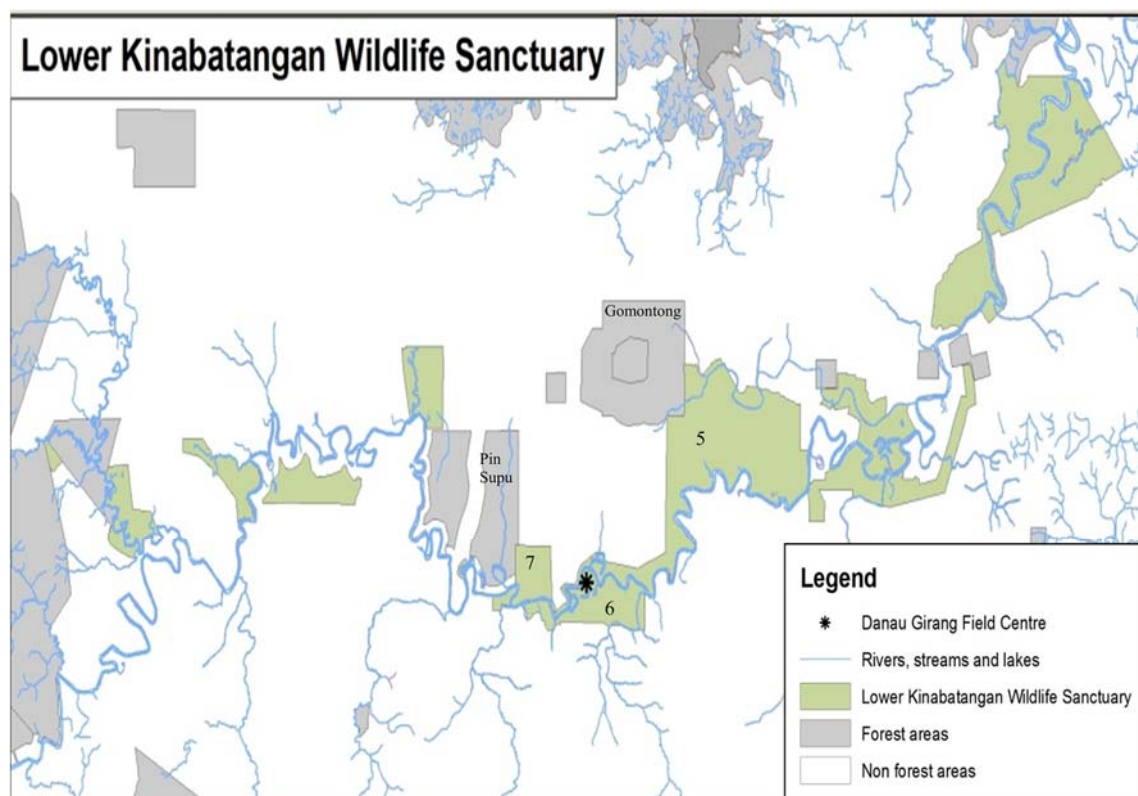


Figura 10. Mapa, del Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo, donde se observan los “lotes” 5, 6 y 7; y las reservas forestales de Gomontong y Pin Supu (con permiso de Hearn, A.)

Captura con jaulas-trampa

Para la captura de los felinos salvajes empleados en este estudio se emplearon jaulas trampa de diferentes tamaños y con diferentes cebos o atrayentes. Dependiendo del felino que se pretendía capturar, se usaron dos tipos de jaulas trampa que no solo diferían en cuanto al tamaño, sino también al mecanismo de acción de sus puertas deslizantes o guillotinas.

Captura de gatos leopardo de Borneo (*Prionailurus bengalensis borneoensis*) mediante jaulas trampa.

Las jaulas trampa empleadas para la captura de esta especie consistían en una estructura metálica rectangular electro-soldada con las siguientes dimensiones: 60 cm de altura x 100 cm de longitud x 40 cm de anchura. Estas jaulas trampa constan de una sola puerta deslizante o guillotina que se activa tras pisar una plataforma-pedal de madera situada en el interior de la jaula (gráfico 1; figura 11). La malla que recubre la jaula trampa es malla gallinera recubierta de plástico para evitar laceraciones o heridas cuando los animales intentan escapar.

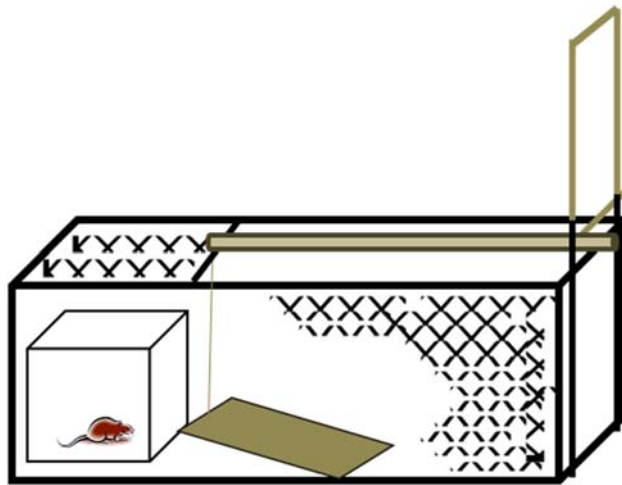


Gráfico 1. Esquema de la jaula trampa empleada para la captura de gatos leopardo de Borneo.



Figura 11. Vista lateral de una jaula trampa empleada para la captura de gatos leopardo. A: jaula para el cebo vivo. B: plataforma (camuflada con vegetación de la zona). C: puerta deslizante o guillotina

Los cebos utilizados en este tipo de trampas consistían en rata viva, pollo vivo, o dispositivos que simulan presa viva (figura 12). Los cebos o atrayentes fueron utilizados de forma aleatoria, dependiendo de la disponibilidad de cada uno de ellos. Si se empleaba rata o pollo vivo, los felinos no tenían acceso a estos cebos puesto que se situarían dentro de otra jaula, evitando contacto físico con el depredador. Para proteger al gato capturado de la posible lluvia o sol, empleábamos una lámina de madera contrachapada colocada encima de la trampa, y que posteriormente cubríamos con vegetación de la zona (figura 13).



Figura 12 (izquierda). Jaula trampa usada sin cebo vivo y con dispositivo electrónico que simula un roedor. Figura 13 (derecha). Vista lateral de una jaula trampa camuflada

La elección de los lugares donde se colocaron las trampas se realizó en base a avistamientos previos de la especie, avistamientos de huellas, marcas o deposiciones y/o fotografías mediante cámaras-trampa.

Las trampas se visitaron todos los días entre 8:30 am y 10:30 am para comprobar si se había producido alguna captura, evaluar la condición de la trampa y dar de beber y comer al cebo vivo o cambiar las baterías de los dispositivos electrónicos.

Una vez que se producía una captura, se cubría la jaula con una tela para reducir el estrés, mientras evaluamos la idoneidad del animal para la anestesia, así como el peso del animal y determinar el volumen del fármaco a inyectar.

Captura de panteras nebulosas Sunda (*Neofelis diardi*) mediante jaulas trampa.

Las jaulas trampa para esta especie fueron diseñadas de dos formas. Uno de los diseños presentaba una sola puerta deslizante o guillotina, que se activaba una vez que la pantera pisara la plataforma-pedal situada en el extremo opuesto de la trampa. Estas cajas trampa tenían las siguientes dimensiones: 1 metro de altura x 2 m. de longitud x 1 m. de anchura.

El otro tipo de jaula trampa fue diseñado de manera que tuvieran dos puertas deslizantes o guillotinas que se activaran tras pisar una plataforma-pedal situado en el medio exacto de la jaula trampa. Las medidas empleadas en el diseño de esta jaula trampa se pueden observar en la figura 14.



Figura 14. Jaula trampa empleada para la captura de panteras nebulosas Sunda salvajes.

Para ambos diseños de las jaulas trampa se utilizó alambre de hierro de 3 mm de diámetro soldado artesanalmente por soldadores profesionales de Ladah Datu y Sandakan (Sabah, Borneo Malayo).

Los cebos o atrayentes empleados para la captura de esta especie consistieron en cebo vivo (gallina) o cebo muerto (carcasas de pollo, carcasa de cerdo barbudo – *Sus barbatus*), empleados en las cajas trampa con una sola guillotina. Para las cajas trampa de dos guillotinas se utilizaron dispositivos eléctricos que simulan presa viva (Frantic Fawn®, Primos Hunting®, Flora, Mississippi, EEUU); figura 15), extracto de *Nepeta cataria* (hierba gatera; Catnip-Spielspray®, Trixie®, Zooplus Madrid, España), orina de pantera nebulosa Sunda procedente de cautividad o bien, no se empleó ningún tipo de cebo.

La orina de pantera nebulosa Sunda procedía del centro de vida salvaje de Lok Kawi (Sabah) donde los animales estaban bajo control veterinario y habían sido previamente vacunados y desparasitados. Para obtener la orina del individuo que se encontraba en exhibición, se introducía un panel de metacrilato de 3-4 mm de grosor y de dimensiones aproximadas de 1 m x 1m en el interior de la instalación. El panel se colocaba en el suelo en cualquier parte de la instalación o en aquellas zonas donde se había observado previamente un comportamiento de marcaje con orina o heces. Las panteras nebulosas marcan el territorio con su orina en superficies horizontales a diferencia de cómo lo hacen otras especies de felinos. Este marcaje se ha denominado “urine-walking” o “andar mientras se orina” (Fazio, 2010). El panel de metacrilato se dejaba entonces en la instalación durante un día y la orina se recogía tan pronto como era detectada. En otros casos donde los animales estaban confinados en suelos no porosos, como cemento, la orina era recogida durante la mañana. La orina se recogía en jeringas de 20 ml y se pasaba a contenedores de plástico no estériles y se mantenía en refrigeración. Antes de usar la orina como atrayente para las trampas, se congelaba a -20°C por un mínimo de 48 horas para inactivar posibles agentes patógenos. Una vez descongelada, la orina era separada en alícuotas de 15-20 ml que eran sometidas a tratamiento por radiación no ionizante U.V (CV006, UVIttec Limited, Cambridge, UK) durante 30 minutos para disminuir la carga bacteriana.

En aquellos casos en los que se empleó la cría de ciervo electrónica, ésta era rociada a diario con un espray de orina de ciervo hembra (Select Doe Urine®, Wildlife Research Center®, Ramsey, Minnesota, EEUU) para enmascarar olores.



Figura 15. Jaula trampa para pantera nebulosa en la que se utilizó una cría de ciervo artificial (Frantic Fawn®) como atrayente.

Las trampas fueron colocadas en zonas de tránsito de las panteras previa observación mediante foto-trampeo. Todas las trampas fueron camufladas en mayor o menor medida con vegetación de la zona y protegidas de sol y/o lluvia.

Las trampas se visitaron todos los días entre 8:00 am y 10:00 am para comprobar si se había producido alguna captura, evaluar la condición de la trampa, dar de beber y comer al cebo vivo, cambiar las baterías de los dispositivos electrónicos o renovar la orina o los atrayentes.

Durante el período de capturas llevado a cabo en el Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo, las trampas para las panteras nebulosas fueron video-vigiladas por cámaras trampa HC600 HyperFire High Output Covert IR® (RECONYX, Inc. Holmen, Wisconsin, EEUU). Un máximo de dos cámaras trampa fueron colocadas a ambos lados de las cajas trampa y a una distancia aproximada de entre 8 y 15 metros para obtener información sobre la efectividad de las cajas trampa y de los cebos utilizados. Estas cámaras se activan gracias a un detector de movimientos infra-rojo pasivo. Las cámaras fueron ajustadas de tal manera que dispararan una foto cada segundo una vez activadas por movimiento.

Una vez que se producía una captura se evaluaba a distancia (con ayuda o no de binoculares) la idoneidad del animal para la anestesia, así como el peso del animal para determinar el volumen del fármaco a inyectar. En este caso, las jaulas trampa no fueron cubiertas con tela debido a las grandes dimensiones de éstas.

Para evaluar la eficacia e idoneidad de las jaulas trampa como método de captura se calcularon el éxito de captura (EC) en ambas especies y la tasa de captura (TC) en pantera nebulosa Sunda ya que solamente en esta especie las jaulas trampa fueron monitorizadas por cámaras trampa.

Animales capturados in-situ

Las especies que fueron capturadas para el estudio corresponden a gato leopardo de Borneo (*Prionailurus bengalensis borneoensis*) y pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*).

El número de individuos capturados por especie, número de recapturas, sexo de los individuos y localización de las capturas está representado en la tabla 7.

El número de individuos capturados según el tipo de cebo o atrayente está representado en la tabla 8.

Especie	Número de individuos capturados	Número de individuos recapturados	Número de machos	Número de hembras	Localización de las capturas
<i>Prionailurus bengalensis borneoensis</i>	9	0	6	3	USFR (9)
<i>Neofelis diardi</i>	5	1	3	2	USFR (1) LKWS (4)

Tabla 7. Especie, sexo, recapturas y localización de los felinos capturados durante el programa. Entre paréntesis se muestra el número de individuos capturados por localización: Ulu Segama Forest Reserve (Reserva Forestal de Ulu Segama); LKWS: Lower Kinabatangan Wildlife Sanctuary (Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo)

Tipo de jaula				Tipo de cebo					
Especie	JG1	JG2	JP	RV	GV	CP	CCB	O	DELEC
<i>Prionailurus bengalensis borneoensis</i>	1	-	8	8	1	-	-	-	-
<i>Neofelis diardi</i>	1	4	-	-	-	1	-	4	-

Tabla 8. Número de individuos capturados por especie según el cebo utilizado. JG1: Jaula trampa grande de 1 guillotina. JG2: Jaula trampa grande de 2 guillotininas. JP: Jaula pequeña. RV: Rata viva. GV: Gallina viva. CP: Carcasa de pollo. CCB: Carcasa de cerdo barbudo. O: Orina. DELEC: Dispositivo electrónico

Fármacos empleados en la anestesia: gatos leopardo de Borneo

En esta especie se administró la combinación de tiletamina-zolacepam, suplementada o no con ketamina. Estos fármacos fueron administrados por vía intramuscular en todos los animales.

La tiletamina-zolacepam comercial utilizada correspondía a Zoletil 100 ® 100mg/ml (Virbac SA, Carros, Francia) y consistía en un vial con los dos fármacos liofilizados en proporciones iguales (250 mg de clorhidrato de tiletamina/250 mg de clorhidrato de zolacepam) y otro vial con 5 ml de agua estéril para inyección. Una vez reconstituido el producto, se obtiene una concentración de 100 mg de tiletamina/zolacepam por mililitro. Siguiendo las recomendaciones del laboratorio, este producto se mantenía en refrigeración y al abrigo de la luz. Los viales reconstituidos eran desechados en 3 semanas.

Las dosis estimada a administrar fue de 7 mg/kg en base a las publicaciones previas en la especie (Grassman *et al.*, 2004; Rajaratnam *et al.*, 2007) y otras publicaciones relacionadas con felinos de tamaño mediano (Shindle y Tewes, 2000).

La ketamina empleada correspondía a la ketamina inyectable comercial Imalgene 1000® 100mg/ml (Rhone Merieux, Lyon, Francia).

Si dosis adicionales eran necesarias para conseguir una completa inmovilización química de los individuos, ketamina o tiletamina-zolacepam fueron administrados a dosis de 3 mg/kg (Kreeger *et al.*, 1990a; Kreeger *et al.*, 2002).

Fármacos empleados en la anestesia: pantera nebulosa Sunda

Para la anestesia de panteras nebulosas Sunda se utilizaron dos combinaciones anestésicas diferentes: tiletamina-zolacepam y medetomidina-ketamina. La medetomidina fue revertida con atipamezol. Los fármacos fueron administrados por vía intramuscular en todos los individuos.

La tiletamina-zolacepam comercial utilizada correspondía a Zoletil 100® 100mg/ml (Virbac SA, Carros, Francia) (ver detalles en párrafos anteriores). Siguiendo las recomendaciones del laboratorio, este producto se mantenía en refrigeración y al abrigo de la luz. Los viales reconstituidos eran desechados en 3 semanas.

La ketamina empleada correspondía a la ketamina inyectable comercial Imalgene 1000® 100mg/ml (Rhone Merieux, Lyon, Francia).

La medetomidina utilizada correspondía a la medetomidina comercial Dorbene® 1mg/ml (Pfizer, Madrid, España).

Las dosis estimadas a administrar fueron dosis de medetomidina entre 0.04-0.05 mg/kg y dosis de ketamina entre 3-5 mg/kg, así como dosis de tiletamina-zolacepam entre 6.5 y 10 mg/kg. Para revertir los efectos de la medetomidina se utilizó atipamezol (Alzane® 5mg/ml, Pfizer, Madrid, España) a dosis 5 veces superior a la de medetomidina administrada. No se empleó flumazenilo para revertir los efectos del zolacepam.

Métodos de inyección o tele-inyección de la anestesia

Tras la captura de los ejemplares, la inyección de la combinación anestésica se llevó a cabo de dos formas según la especie capturada.

En gato leopardo, debido a su pequeño tamaño, la técnica usada para inyectar el anestésico fue la de jeringa en mano. En esta técnica, el volumen de anestésico a inyectar es cargado en una jeringa de 1 ml (Braun®, Henry-Schein; Madrid) con aguja hipodérmica de 25 gauges.

Con objeto de inyectar el anestésico por este método y para restringir los movimientos del gato leopardo, se introducía en la jaula trampa un panel de madera de 55 cm x 35 cm. Este panel permitía empujar suavemente al individuo hacia uno de los extremos de la jaula, de manera que la inyección se realizaba desde fuera de la jaula trampa. De esta manera se aseguraba que el volumen de anestésico fuera inyectado en la musculatura del tercio posterior. Tras la inyección el panel se sacaba de la jaula poco a poco sin movimientos bruscos para evitar asustar a los individuos.

En pantera nebulosa Sunda la inyección del anestésico se realizó mediante cerbatana y dardo. La cerbatana medía 1.2 metros y fue confeccionada artesanalmente a partir de un tubo de aluminio. Los dardos empleados fueron dardos comerciales de 5 ml (Telinject®, Alemania; figura 16) con agujas de 1.2 mm x 38.1 mm (Sterile Monoject, Telinect®, Alemania). El dardo era disparado en la musculatura del tercio posterior.



Figura 16. Dardos empleados para la inyección anestésica de las panteras nebulosas

Monitorización anestésica en gatos leopardo y panteras nebulosas Sunda. Registros clínicos.

Tras la administración de los fármacos y una vez que los individuos apoyaban la cabeza en el suelo y no respondían al reflejo auricular, fueron sacados de la cajas trampa y colocados en decúbito lateral en zonas de sombra. A todos los animales se les aplicó pomada oftálmica lubricante (Lubrihal®, Farmacia Veterinaria, Almería, España) y se cubrió los ojos con una venda que se mantuvo durante todo el proceso anestésico.

Para el estudio de los efectos anestésicos en ambas especies se registraron los siguientes tiempos:

- Tiempo de inducción: el tiempo desde que se inyecta la dosis anestésica hasta que el animal descansa su cabeza sobre el suelo.
- Tiempo de anestesia: tiempo desde que el animal tiene su cabeza apoyada en el suelo hasta que la levanta.

En gatos leopardo se registraron además:

- Tiempo de liberación: tiempo desde que el animal mantiene la cabeza levantada hasta que no muestra signos del fármaco (ej. ataxia) y es liberado.
- Tiempo de trabajo efectivo: tiempo necesario para extraer muestras biológicas de los individuos y colocación de los radio-collares, estando los individuos bajo anestesia.

En panteras nebulosas Sunda, además de los tiempos de inducción y anestesia, se registraron:

- Tiempo de recuperación: tiempo desde que el animal levanta su cabeza hasta que se coloca en estación.


Para el grupo de panteras anestesiadas con medetomidina-ketamina, el tiempo de anestesia se define como el tiempo desde que el animal descansa la cabeza sobre el suelo hasta que recibe el atipamezol. En este grupo también se incluye el tiempo de antídoto, que comprende desde que se inyecta el atipamezol hasta que el animal levanta la cabeza.

Los parámetros fisiológicos medidos durante la inmovilización química de los felinos fueron los siguientes:


- Frecuencia respiratoria, medida por los movimientos del tórax.
- Frecuencia cardíaca, medida mediante auscultación cardíaca por estetoscopio (Littman® Classic II S.E.; 3M España, Madrid, España), y palpación del pulso periférico en la arteria femoral.
- Temperatura corporal, medido por termómetro digital vía rectal con rango entre 28.9-42.2°C.

En panteras nebulosas Sunda, fue posible además medir la saturación parcial de oxígeno o saturación de oxígeno en hemoglobina arterial (medido por pulsioximetría: Nellcor® N-65 Portable Pulse Oximeter (Nellcor Inc., Pleasanton, California, EEUU) con sonda veterinaria colocada en la lengua de los individuos.


Los parámetros fueron medidos cada diez minutos y anotados en una hoja de registros por un técnico de campo (Figura 17).




The Borneo Wild Care
Veterinary Project



WILDCRU
Wildlife Conservation Research Unit



DANAU GIRANG • FIELD CENTRE



The Borneo Wild Care
Veterinary Project

WILDLIFE ANESTHESIA RECORD

Date: _____ Veterinarian(s)/Personnel: _____
 Location: _____
 Ambient Temperature: _____ Weather Conditions: _____
 Time: _____ Purpose of Capture: _____
 Species: _____ Sex: _____ Age: _____
 Weight: _____ Corporal condition/Health Status: _____
 Injection time: _____ Inoculation location: _____
 Drug 1: _____ Dose: _____
 Drug 2: _____ Dose: _____
 Drug 3: _____ Dose: _____
 Induction time: _____ Posture: _____
 Cardiac Rate (T1): _____ Resp. Rate (T1): _____ T_a: _____ SpO₂: _____
 Cardiac Rate (T2): _____ Resp. Rate (T2): _____ T_a: _____ SpO₂: _____
 Cardiac Rate (T3): _____ Resp. Rate (T3): _____ T_a: _____ SpO₂: _____
 Cardiac Rate (T4): _____ Resp. Rate (T4): _____ T_a: _____ SpO₂: _____
 Cardiac Rate (T5): _____ Resp. Rate (T5): _____ T_a: _____ SpO₂: _____
 Mucous memb.: _____ C.R.T _____ Hydration Status: _____
 General Examination: _____
 Samples: Blood: _____ Urine: _____ Feces: _____ Cytol.: _____ Biopsy: _____
 Reversal Agent(s): _____ Injection Time Reversal: _____ Dose: _____
 Anesthesia Time: _____ Recovery Time: _____
 Release Time: _____ Identification: _____
 Treatment(s) / Others: _____

Figura 17. Hoja de captura e inmovilización química

La relajación muscular en los individuos fue evaluada, aunque subjetivamente, mediante el control del tono muscular en una de la extremidades posteriores. La percepción al dolor fue también evaluada mediante el reflejo de retirada durante la venipunción. El tiempo de relleno capilar fue valorado también en todos los animales aplicando una ligera presión con el dedo índice sobre la encía, y midiendo el tiempo en el que esa zona vuelve a mostrar un color rosado tras la retirada de la presión. Tiempos menores a dos segundos se considerarían dentro de la normalidad, tiempos mayores a dos segundos se considerarían como un signo clínico de perfusión sanguínea periférica baja. En todos los animales se valoraron lesiones externas debidas al confinamiento en trampa o en jaula, así como lesiones en la dentición.

Todos los individuos fueron sujetos a una escala subjetiva de condición corporal basándonos en peso, acumulación de grasa sobre las costillas y abdomen y prominencia de estructuras óseas como las apófisis espinosas de las vertebrae lumbares. De esta manera, los animales que tuvieran una condición corporal ideal se considerarían con una escala de 3/5; animales con sobre peso se situarían en una escala de 4/5 y los animales obesos en una escala de 5/5. Los individuos que mostraron un peso bajo con una ligera visibilidad de las prominencias óseas se consideraron dentro de la escala 2/5. Finalmente los individuos caquécticos se situarían en una escala de 1/5.

Obtención de muestras sanguíneas.

Las muestras de sangre en los gatos leopardo fueron obtenidas de la vena yugular, en las panteras nebulosas además se obtuvieron también de las venas cefálicas o safenas. En los gatos leopardo se emplearon jeringas de 5 ml con agujas de 22 gauges y se extrajeron entre 5-6 ml de sangre por individuo.

En las panteras nebulosas se utilizaron jeringas de 5 ml y de 10 ml, con agujas de 21 gauges. Se extrajo entre 12-15 ml de sangre por animal.

Procesado de muestras sanguíneas.

En todos los casos, la sangre fue recogida en tubos con anticoagulante de ácido etileno diamino tetracético (EDTA) o sin anticoagulante y con gránulos de poliestireno para favorecer la coagulación. Las muestras obtenidas en campo fueron mantenidas en nevera portátil a una temperatura de $\pm 8^{\circ}\text{C}$ y todas las muestras fueron procesadas en un tiempo menor a 24 horas.

En el caso de los tubos empleados para bioquímica sérica, éstos fueron centrifugados a 2500 rpm durante 15 minutos, el suero fue separado y recogido en tubos eppendorf y mantenidos a $\pm 8^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento.

Para el procesamiento de muestras, se utilizaron laboratorios comerciales que aceptaban muestras de sangre de animales. Los analizadores que empleaban estaban adaptados para procesar sangre de animales. Uno de los laboratorios estaba localizado en el pueblo de Lahad Datu (BP® laboratorios) y otro en Sandakan (Gribbles Pathology® laboratorios). El motivo de usar diferentes laboratorios estriba en que dos de las áreas de trabajo (DVCA y USFR) estaban situadas a tres horas de Lahad Datu y otra de las áreas de trabajo (LKWS) estaba situada a cuatro horas de Sandakan, facilitando el transporte de las muestras. El laboratorio de Lahad Datu cerró sus instalaciones durante la primera fase de capturas, complicando aun más la logística del proyecto.

Los analizadores de hematología empleados por los laboratorios fueron: Sysmex XT-1800i (Toa Medical Electronics, Hamburgo, Alemania), que funciona mediante impedancia eléctrica.

El recuento diferencial de leucocitos fue llevado a cabo mediante lectura al microscopio de extensiones sanguíneas en portaobjetos teñidas con una tinción comercial de Wright (Quick Panoptic, Química Clínica Aplicada, Tarragona, España).

Para el análisis de electrolitos, se empleó el ISE Electrolyte Analyzer (Toa Medical Electronics, Hamburgo, Alemania), que mide las concentraciones de los iones de sodio, potasio y cloro a través de medidas en el voltaje por electrodos selectivos. Para la bioquímica sanguínea se empleó el analizador clínico automatizado: ADVIA 2400 Clinical Chemistry System (Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania). Para la medición de la actividad sérica de las enzimas, se siguieron las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (IFCCLM, por sus siglas en inglés).

Parámetro	Método de análisis
Calcio (mg/dl)	Método colorimétrico
Fósforo (mg/dl)	Método colorimétrico
Sodio (mEq/l)	Método colorimétrico
Potasio (mEq/l)	Método colorimétrico
Cloro (mEq/l)	Método colorimétrico
Magnesio (mEq/l)	Método colorimétrico
Hierro (umol/l)	Método colorimétrico
Urea (mg/dl)	Método colorimétrico cinético
Creatinina (mg/dl)	Método colorimétrico cinético
Ácido Úrico (mg/dl)	Método colorimétrico cinético
Bilirrubina total (mg/dl)	Método colorimétrico
Glucosa (mg/dl)	Método colorimétrico enzimático (método de la hexoquinasa)
Colesterol (mg/dl)	Método colorimétrico enzimático
Triglicéridos (mg/dl)	Método colorimétrico enzimático
CK (UI/l)	Método enzimático ultravioleta
LDH (UI/l)	Método cinético ultravioleta
FA (UI/l)	Método colorimétrico cinético
ALT (UI/l)	Método cinético ultravioleta
AST (UI/l)	Método cinético ultravioleta
GGT (UI/l)	Método colorimétrico cinético
Amilasa (UI/l)	Método colorimétrico cinético
Lipasa (UI/l)	Método colorimétrico enzimático
Proteínas Totales (g/dl)	Método colorimétrico
Albumina (g/dl)	Método colorimétrico

Tabla 9. Métodos de análisis para los diferentes parámetros de bioquímica sérica

Para aquellas muestras en las que se midió cortisol en sangre, se utilizó el analizador ADVIA Centaur XP Cortisol Assay (Toa Medical Electronics, Hamburgo, Alemania), que es un inmunoensayo competitivo por tecnología de química luminiscente.

Durante el examen físico, todos los individuos fueron considerados sanos y no se observó ninguna anomalía que pudiera afectar a los parámetros hematológicos y bioquímicos, por lo que todas las muestras fueron consideradas válidas para el estudio.

3.2. Programas de conservación *ex-situ*.

Los animales mantenidos en cautividad que participaron en el estudio, procedieron de cuatro localizaciones diferentes:

- Lok Kawi Wildlife Center, Sabah (Malasia)
- Matang Wildlife Sanctuary, Sarawak (Malasia)
- Maharani Zoo and Goa, Java (Indonesia)
- Khao Kheow Open Zoo/Thailand Clouded Leopard Consortium, Chonburi (Tailandia)

El número de individuos por especie, sexo y la localización de los ejemplares está representado en la tabla 10.

Especie	Número de individuos	Número de machos	Número de hembras	Localización de los individuos
Pantera nebulosa Sunda (<i>Neofelis diardi</i>)	7	4	3	LKWC (4) MWS (1) MZG (2)
Pantera nebulosa continental (<i>Neofelis nebulosa</i>)	49	29	20	KKOZ (37) SCBI (6) PDZA (6)

Tabla 10. Especie, número y localización de los ejemplares mantenidos en cautividad que participaron en el estudio. Entre paréntesis se muestra el número de individuos por cada localización. LKWC: Lok Kawi Wildlife Center; MWS: Matang Wildlife Sanctuary; MZG: Maharani Zoo and Goa; KKOZ: Khao Kheow Open Zoo; SCBI: Smithsonian Conservation Biology Institute; PDZA: Point Defiance Zoo and Aquarium

En todos los casos donde los animales fueron anestesiados y muestreados, la toma de registros clínicos, obtención y procesamiento de muestras sanguíneas siguieron los mismos protocolos que para los animales capturados *in-situ*. Las muestras sanguíneas de panteras nebulosas Sunda fueron trasladadas a laboratorios Gribbles® Pathology en Kota Kinabalu (Sabah) y en Kucing (Sarawak) para unificar los procedimientos de análisis.

Panteras nebulosas continentales (*Neofelis nebulosa*) *ex-situ*: metodología para la evaluación de la dinámica de la masa corporal en cachorros de pantera nebulosa continental.

En este estudio se utilizaron las medidas de peso de 49 panteras nebulosas (29 machos y 20 hembras) nacidas en cautividad, entre los años 2003 y 2012. Dieciocho camadas nacieron en el zoológico de Khao Kheow en la provincia de Chon Buri, Tailandia, tres camadas nacieron en el Centro de Supervivencia de Especies en el Instituto de Biología de la Conservación de Smithsonian, Front Royal (Virginia, EEUU) y tres camadas nacieron en Point Defiance Zoo & Aquarium (Washington, EEUU).

Todos los cachorros de este estudio se retiraron de su madre cuando tenían menos de 24 horas de vida. Las medidas de peso ($n = 3697$) se registraron diariamente antes de la primera comida de la mañana y hasta los tres meses de edad que fue la edad en la que se completó el destete de los cachorros. Los pesos diarios de algunos cachorros en las camadas tailandesas no fueron registrados debido principalmente a los cortes del suministro energético que dejaron sin electricidad al centro. Cada cachorro se pesó una media de 77 veces durante los tres meses que duró el proceso de cría.

Durante el proceso de cría artificial se utilizó una fórmula nutricional preparada a partir de una mezcla de dos fórmulas lácteas comerciales para carnívoros (KMR® y Zoologic Milk Matrix 33/40® (PetAg, Hampshire, Illinois, EEUU). La fórmula láctea se preparó usando 3 partes de KMR® y 1 parte de Zoologic Milk Matrix®. Estas fórmulas lácteas comerciales fueron empleadas en base a publicaciones previas relacionadas con la cría a biberón en diferentes especies de felinos salvajes (Hedberg, 2002; Grant, 2005).

Los cachorros recibieron el 28% de su peso corporal al día, ofrecida en múltiples tomas al día dependiendo de su edad (el número de tomas por día viene expresado en la tabla 11). Para evitar problemas de sobrealimentación/digestión en los cachorros, se administró, como máximo, el 80% de la capacidad total del estómago. La capacidad del estómago de la mayoría de los mamíferos placentarios se considera que es de 5-7% del peso corporal (Grant, 2005) o 50 ml/kg (Meier, 1986).

Edad del cachorro (días)	Número de tomas por día	Horario de tomas
0-13	7	6:00 am, 9:00 am, 12:00 pm, 3:00 am, 6:00 pm, 9:00 pm, 12:00 am
14-27	6	6:00 am, 10:00 am, 2:00 pm, 6:00 pm, 9:00 pm, 12:00 am
28-47	5	6:00 am, 10:30 am, 3:00 pm, 7:30 pm, 12:00 am
48-64	4	6:30 am, 12:30 pm, 6:00 pm, 12:00 am
65-78	3	7:00 am, 2:00 pm, 11:00 pm
79-90	2	8:00 am, 8:00 pm

Tabla 11. Frecuencia y horario de alimentación en cachorros de pantera nebulosa

El proceso de cría artificial se dividió en tres períodos basándose en la alimentación recibida por el cachorro:

- Etapa 1: cachorros alimentados únicamente con fórmula láctea (días 1-28);
- Etapa 2: cachorros alimentados con fórmula láctea suplementada con proteínas (generalmente potito de pavo [alimentos para bebés Gerber®]; (días 29-42);
- Etapa 3: cachorros alimentados con fórmula a bajas cantidades y carne (pollo y / o ternera; días 43-90).

Todos los cachorros fueron alimentados con carne, sin adición de fórmula láctea a la edad de 90 días.

3.3. Métodos estadísticos.

Dinámica de la masa corporal en cachorros de pantera nebulosa continental

Se utilizaron modelos de efectos mixtos lineales para tener en cuenta la correlación entre las medidas repetidas para cada cachorro (Laird y Ware, 1982). Para tener en cuenta los posibles cambios en la cinética de la masa corporal, se utilizaron modelos lineales de tres pendientes, con dos umbrales de tiempo, correspondiente a los días de los cambios alimenticios (días 28 y 42). Ya que la tercera pendiente no difirió significativamente de la segunda ($P=0.27$), se obtuvo un modelo con 2 tramos (un umbral a los 28 días), en el que la primera pendiente (antes de 28 días) y el cambio en la otra vertiente (después de 28 días) difiere significativamente de 0 ($P<0.01$).

El análisis estadístico se centró en dos grupos: los cachorros sanos ($n = 31$) y los cachorros que sufrieron problemas digestivos (principalmente gastroenteritis o diarreas leves a moderadas) en cualquier momento durante el estudio ($n = 18$). Los efectos del sexo sobre la dinámica de la masa corporal fueron evaluados mediante la introducción de términos de interacción entre estas variables y cada pendiente: las dos vertientes se pueden cambiar de acuerdo con el valor de la variable "sexo" y "tamaño de la camada".

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SAS versión 9.3. El procedimiento PROC GENMOD se utilizó para los modelos de efectos lineales mixtos. Las pruebas estadísticas utilizadas para comparar masas corporales estimadas entre los grupos (machos y hembras) fueron las pruebas de chi-cuadrado de Wald. Para comparar el peso de los machos y las hembras al nacer y al final de la cría artificial así como para comparar el peso de los machos y las hembras de la población cautiva tailandesa adulta, se utilizó la prueba t de Student para datos independientes.

Anestesia de gatos leopardo de Borneo

Se empleó el programa de software SPSS para Windows (SPSS 15.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, EEUU). Las relaciones entre las medidas de efecto del fármaco y las dosis de drogas fueron comprobadas con una prueba de ANOVA de una vía y confirmadas con tests de Welch y Brown- Forsythe. Valores de $P \leq 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos

Anestesia de pantera nebulosa Sunda

Para el análisis estadístico se utilizó SPSS versión 21.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp). Se diferenciaron 2 grupos (M-K y T-Z), considerando que los datos no estarían normalmente distribuidos al ser un tamaño de muestra pequeño, y considerando que los 2 grupos eran independientes (animales distintos), fue usado un test estadístico no-paramétrico, el Mann Whitney U test. En el caso del animal recapturado, solo el primer evento anestésico fue incluido en el estudio estadístico. Valores de $P \leq 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Hematología y bioquímica sérica en pantera nebulosa Sunda y en gatos leopardo de Borneo

La media, desviación estándar y el rango fue calculado para cada uno de los parámetros sanguíneos. Para conocer si los datos fueron distribuidos de manera normal, se empleó el test de Komolgorov-Smirnov. Los datos que no siguieron una distribución normal fueron analizados mediante el test U Mann-Whitney. El rango de referencia se calculó mediante la fórmula: $\text{media} \pm 2\text{DE}$. En aquellos casos en los que los parámetros no se encontraran dentro de una distribución normal, el rango estimado de referencia se expresó mediante los valores máximos y mínimos. Se utilizó la prueba t de Student, del programa R, versión 2.11.1 (2008) para variables aleatorias no pareadas para detectar diferencias significativas entre sexos y entre las poblaciones silvestre y cautiva (dos colas, $P \leq 0.05$).

Permisos de investigación

Agradecemos a todos los organismos que nos concedieron los permisos de investigación para este estudio.

Los permisos de investigación que incluyeron captura, anestesia y toma de muestras fueron concedidos por el Departamento de Vida Salvaje de Sabah, por el Consejo de Biodiversidad de Sabah (Permiso con numero de referencia: BVP/PLI/12011/CDAUN0414812/1; Licencia de Acceso: JKM/MBS.1000-2 t2(9s)), y por el Departamento Forestal de Sarawak (Permiso Numero: NCCD.907.4.4(Jld.9)-139 y Permiso de Parque Numero: 25212013).

4. RESULTADOS

4.1. Captura de panteras nebulosas Sunda y gatos leopardo de Borneo mediante jaula-trampa.

Durante el periodo de estudio se capturaron 5 panteras nebulosas Sunda y 9 gatos leopardo mediante jaulas trampa. La tasa de captura fue calculada para panteras nebulosas, entendiendo como tasa de captura el número de individuos capturados dividido por la suma de individuos capturados y de individuos no capturados pero que entraron en la trampa de manera completa o parcial, expresado en porcentaje. Este índice solamente fue posible calcularlo en esta especie puesto que solo las trampas para panteras fueron monitorizadas mediante cámara trampa. Para ambas especies se calculó el éxito de capturas definido como el porcentaje de individuos capturados por número de noches de captura. El éxito de captura y tasa de captura mediante jaula trampa para pantera nebulosa Sunda y gato leopardo de Borneo viene expresado en la tabla 12.

	Pantera nebulosa Sunda	Gato leopardo de Borneo
Numero de individuos capturados	5	9
Éxito de Captura	1.49%	8.3%
Tasa de Captura	71%	N/D

Tabla 12. Éxito de Captura en pantera nebulosa Sunda y gato leopardo de Borneo. Tasa de Captura en pantera nebulosa Sunda. N/D: No Definido debido a falta de monitorización de las trampas

4.2. Anestesia de panteras nebulosas Sunda

En este trabajo se anestesiaron 12 panteras nebulosas Sunda (5 panteras salvajes y 7 panteras mantenidas en cautividad). En la anestesia de panteras nebulosas Sunda diferenciamos dos grupos acorde a la combinación anestésica utilizada: grupo medetomidina-ketamina (M-K) y grupo tiletamina-zolacepam (T-Z). Los resultados del examen físico de las panteras de ambos grupos se expresan en la tabla 13.

Identificación	Sexo	Peso (kg)	Condición corporal	Estado dental	Edad estimada (años)
M3-Fr	Macho	25	3/5	Canino inferior izquierdo fracturado	5-6
M4-Fr	Macho	25.2	3/5	-	2-3
F1-CM	Hembra	18	5/5	-	3-4
F3-Fr	Hembra	9.1	2/5	Caninos inferiores fracturados	7-8
F2-CM	Hembra	13.4	4/5	-	3-4
M1-CM	Macho	21.8	3/5	-	4-5
M1-Fr	Macho	24	3/5	-	3-4
M1-CI	Macho	15	2/5	-	4-5
M2-CM	Macho	21.5	3/5	Canino superior izquierdo y caninos inferiores fracturados	6-7
M3-CM	Macho	18	2/5	-	2-3
F1-CI	Hembra	16	5/5	4 caninos fracturados	8-9
F1-Fr	Hembra	12	3/5	-	2-3

Tabla 13. Peso, condición corporal, caninos fracturados y edad estimada de las 12 panteras nebulosas Sunda del estudio.

Grupo M-K

Los animales anestesiados con la combinación de medetomidina y ketamina, recibieron una dosis de medetomidina entre 0.039-0.054 mg/kg y dosis de ketamina entre 2.42–4.39 mg/kg. La dosis de atipamezol administrado varió entre 0.19–0.27 mg/kg.

Todas las anestesiadas en las que se utilizó la combinación de medetomidina y ketamina la inducción fue suave, sin movimientos bruscos, y todos los animales permanecieron en decúbito esternal. El primer signo de efecto del fármaco fue ataxia. Durante el tiempo de anestesia, los animales fueron extraídos de las trampas o jaulas para llevar a cabo los exámenes médicos durante los cuales se colocaron radio-collares solo en los individuos que fueron capturados en la naturaleza. En todos los animales se extrajo sangre para estudios hematológicos, bioquímicos y serológicos, se tomaron muestras de pelo para estudios genéticos y se tomaron medidas morfométricas. El tiempo de relleno capilar fue ≤ 2 segundos en todos los animales. La miorelajación fue considerada buena durante

todos los eventos en base a la falta de tono muscular en las extremidades posteriores así como en la fácil apertura de la boca (Fahlman *et al.*, 2005).

Ninguno de los animales mostró reflejo de retirada de las extremidades durante la venipunción, lo que indica que el nivel de analgesia fue el adecuado durante todo el procedimiento.

El resto del examen físico desveló que ningún animal había sufrido daño alguno tras el confinamiento en las trampas. En la exploración dental se observó que tres de los animales habían sufrido fracturas en alguno de los caninos inferiores. En este grupo, un animal presentó una condición corporal de 2/5 y otro individuo presentó una condición corporal de 4/5. El resto de los animales de este grupo presentaron una condición corporal ideal. Los parámetros fisiológicos registrados durante la anestesia en el grupo M-K se muestran en la tabla 14.

Parámetro fisiológico	Media±DE	Min	Max	n
Peso de las hembras (kg)	11.2±2.1	9.1	13.4	2
Peso de los machos (kg)	24.7±0.5	24	25.2	3
Latidos por minuto	90.8±10	74	109	5
Respiraciones por minuto	21.1±9	8	36	5
Saturación parcial de oxígeno (%)	93.3±1	87	99	4
Temperatura (°C)	38.6±0.5	37.7	39.8	5

Tabla 14. Parámetros fisiológicos registrados en las panteras nebulosas Sunda anestesiadas con una combinación de medetomidina y ketamina. DE: Desviación estándar. Min.: valor mínimo. Max.: valor máximo

La evolución de los parámetros fisiológicos durante la anestesia de las panteras nebulosas Sunda con esta combinación viene expresado en la figura 18.

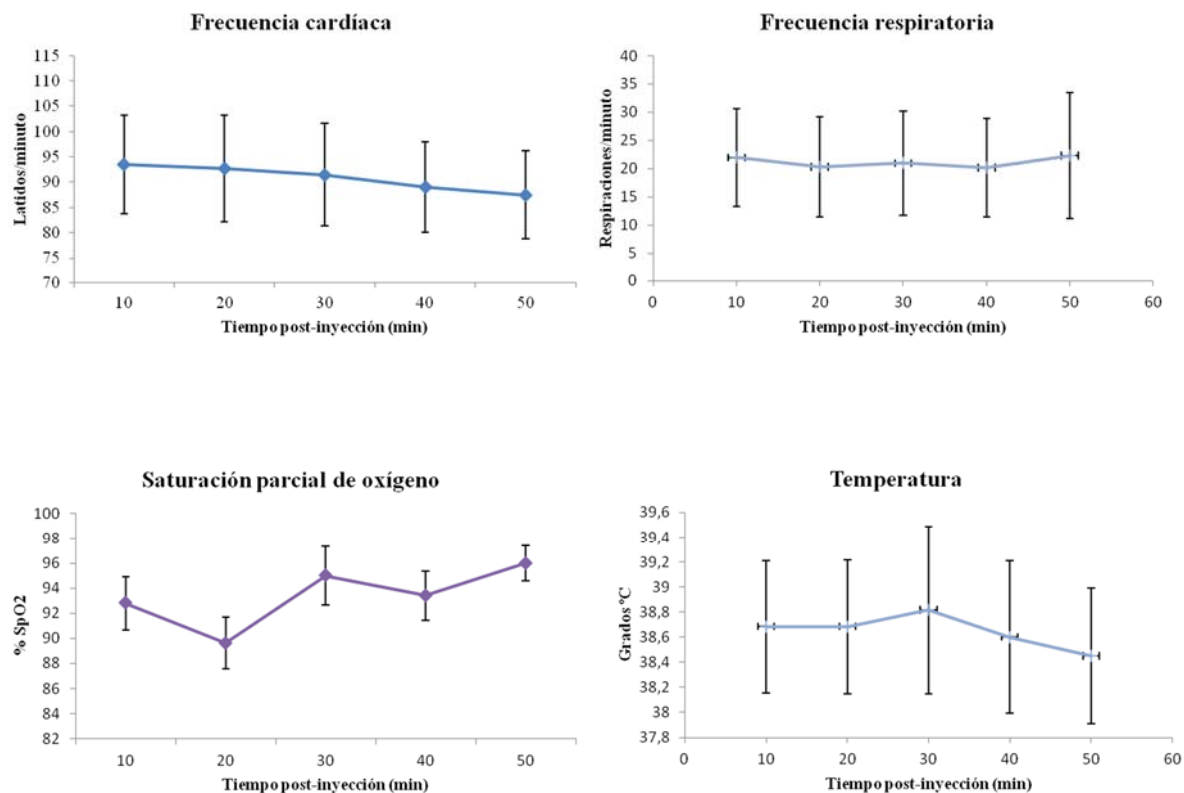


Figura 18. Frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, saturación parcial de oxígeno y temperatura en panteras nebulosas Sunda anestesiadas con una combinación de medetomidina y ketamina. Valores expresados como medias (\pm desviación estándar).

Una vez finalizada la toma de muestras y la colocación del radio-collar, los animales fueron colocados en las jaulas, y una vez allí, se administró el atipamezol para revertir los efectos de la medetomidina.

El tiempo de antídoto varió entre 9 y 13 minutos, tras el cual los animales primero recuperaron reflejo palpebral, después el reflejo auricular y finalmente levantaron la cabeza. La recuperación no fue brusca, y en todos los casos las panteras permanecieron aisladas de sonidos y luz. Una vez que los individuos salvajes no mostraron signos de los efectos de los fármacos, fueron devueltos a la naturaleza. No se registró mortalidad en ninguna de las panteras salvajes durante los seis meses de seguimiento post-liberación mediante GPS o mediante foto trapeo.

Todos los tiempos registrados durante la anestesia con M-K se muestran en la tabla 15.

	Media \pm DE	Min	Max	n
Tiempo de inducción	7.5 \pm 3.3	3	14	5
Tiempo de anestesia	66.5 \pm 14.9	52	93	5
Tiempo de antídoto	11.2 \pm 1.4	9	13	5
Tiempo de recuperación	21 \pm 11.6	12	44	5

Tabla 15. Tiempos registrados durante la anestesia de panteras nebulosas Sunda con una combinación de medetomidina y ketamina. Tiempo expresado en minutos. DE: Desviación estándar. Min.: valor mínimo. Max.: valor máximo

Grupo T-Z

A 7 ejemplares de pantera nebulosa Sunda se les administró T-Z a dosis entre 6.8 y 10.8 mg/kg.

Al igual que en el grupo M-K el primer signo de efecto del fármaco fue el de ataxia. La inducción fue tranquila y en un tiempo inferior a 10 minutos fue posible la extracción de los animales de las jaulas o trampas para su examen médico. El procedimiento de tomas de muestras y radio-marcaje fue el mismo descrito al del grupo M-K.

El tiempo de relleno capilar fue ≤ 2 segundos en todos los animales. La miorelajación fue considerada buena durante todos los eventos, aunque el macho que recibió una dosis de 6.8 mg/kg mostró tono muscular en el tercio posterior a los 90 minutos post-inyección. Ningún animal mostró signos de dolor a la venipunción. El resto del examen físico desveló que dos de los animales sufrieron fracturas de consideración en alguno de los caninos inferiores y superiores. En este grupo, dos animales presentaron una condición corporal de 2/5 y otros dos individuos mostraron una condición corporal de 5/5. El resto presentó una condición corporal ideal. Los parámetros fisiológicos registrados durante la anestesia en el grupo T-Z se muestran en la tabla 16.

Parámetro fisiológico	Media \pm DE	Min	Max	n
Peso de las hembras (kg)	15.3 \pm 2.4	12-18	18	3
Peso de los machos (kg)	19 \pm 2.7	15-21.8	21.8	4
Latidos por minuto	146.8 \pm 17.3	126-196	196	3
Respiraciones por minuto	15.6 \pm 3.8	10-26	26	3
Saturación parcial de oxígeno (%)	94.3 \pm 2.5	91-99	99	2
Temperatura (°C)	37.5 \pm 0.4	36.6-38.2	38.2	3

Tabla 16. Parámetros fisiológicos registrados en panteras nebulosas Sunda anestesiadas con una combinación de tiletamina y zolacepam. DE: desviación estándar. Min.: valor mínimo. Max.: valor máximo

La evolución de los parámetros fisiológicos registrados durante la anestesia de las panteras nebulosa Sunda con la combinación de T-Z viene representado en la figura 19.

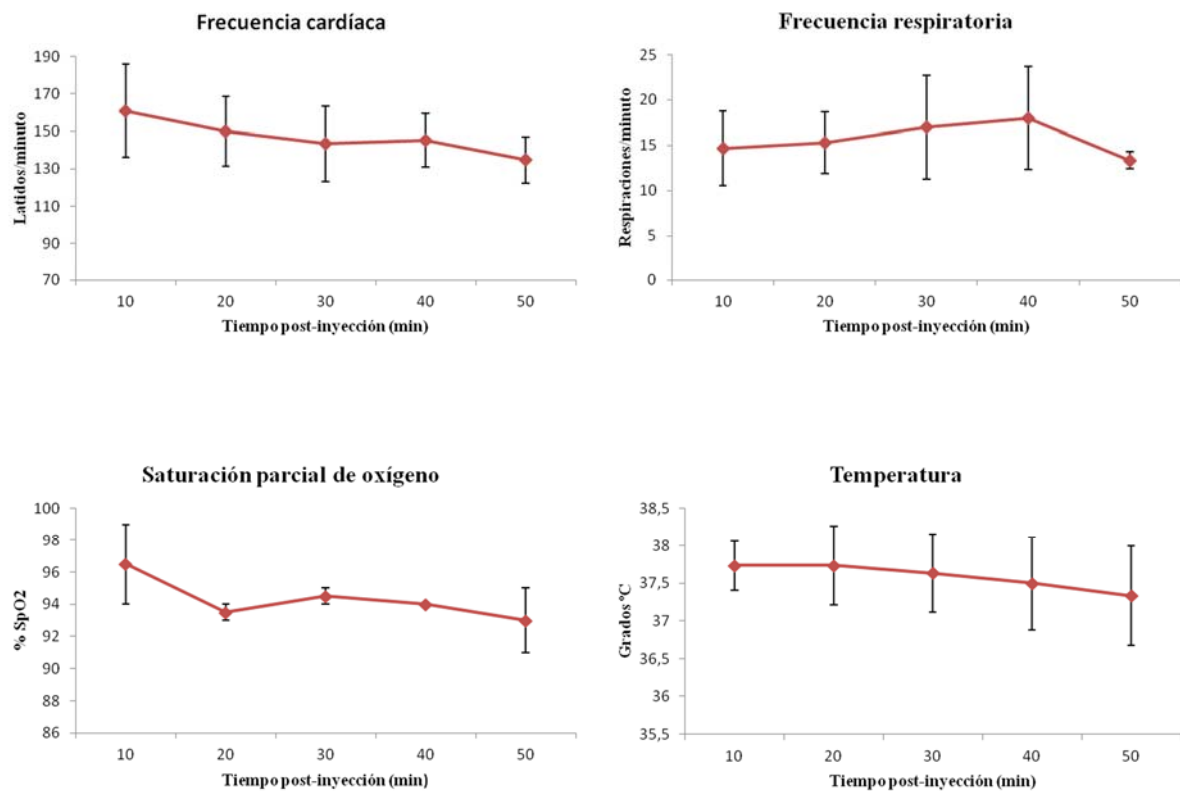


Figura 19. Frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, saturación parcial de oxígeno y temperatura en panteras nebulosas Sunda anestesiadas con una combinación de tiletamina y zolacepam. Valores expresados como medias (\pm desviación estándar).

En todos los animales la toma de muestras biológicas fue realizada en un tiempo inferior a los 90 minutos, aunque los tiempos de anestesia se alargaron entre los 220 y 577 minutos. El rango superior pertenece a una hembra que recibió 10.8 mg/kg de T-Z. Todos los animales se recuperaron en su jaula y/o trampa hasta la completa remisión de los efectos farmacológicos, momento en el cual fueron liberados o dejados en sus instalaciones. No se registró mortalidad en ninguno de los individuos anestesiados con esta combinación en un tiempo post-seguimiento de tres meses.

Todos los tiempos registrados durante la inmovilización química con T-Z se muestran en la tabla 17.

	Media±DE	Min	Max	n
Tiempo de inducción	5.7±3	2	10	7
Tiempo de anestesia	347±162.9	220	577	3
Tiempo de recuperación	30.3±5.4	23	36	3

Tabla 17. Tiempos registrados durante la anestesia de panteras nebulosas Sunda con una combinación de tiletamina y zolacepam. Tiempo expresado en minutos. DE: desviación estándar. Min.: valor mínimo. Max.: valor máximo

4.3. Anestesia de gatos leopardo de Borneo

Nueve gatos leopardo fueron atrapados durante el período de capturas. En la anestesia de los gatos leopardo diferenciamos dos grupos: grupo 1 (Tiletamina-Zolacepam, T-Z) y grupo 2 (T-Z + dosis adicional de T-Z o ketamina). Los pesos oscilaron entre 2.1 a 2.45 kg en los machos ($n = 6$) y 1.60 a 1.80 kg en las hembras ($n = 3$). El peso medio de los machos fue de 2.1 ± 0.12 kg y 1.72 ± 0.10 kg para las hembras. Los resultados del examen físico practicado en los gatos leopardo se muestran en la tabla 18.

Identificación	Sexo	Peso (kg)	Condición corporal	Heridas en la captura	Edad estimada(años)
LCM1	Macho	2.1	3/5	-	2-4
LCF1	Hembra	1.8	3/5	-	4-6
LCF2	Hembra	1.75	3/5	-	4-6
LCM2	Macho	2.3	3/5	-	4-6
LCM3	Macho	2.3	3/5	-	4-6
LCF3	Hembra	1.6	2/5	-	2-4
LCM4	Macho	2.4	3/5	-	4-6
LCM5	Macho	2.45	3/5	-	4-6
LCM6	Macho	2.4	3/5	Laceración en la piel de la zona frontal de la cabeza	4-6

Tabla 18. Peso, condición corporal, heridas externas y edad estimada de los 9 gatos leopardo del estudio.

Grupo 1

El grupo 1 lo componen cinco gatos leopardo. En este grupo se utilizó una dosis media de T-Z de 6.92 ± 1.06 mg/kg. Esta dosis fue suficiente para la inmovilización completa de los animales capturados. Tras la inducción, los animales fueron extraídos de las trampas y colocados en decúbito lateral para la monitorización anestésica. El tiempo de relleno capilar fue ≤ 2 segundos en todos los animales. La miorelajación fue considerada adecuada en todos los animales de este grupo. El resto del examen físico desveló que ningún animal había sufrido daño alguno tras la captura. En este grupo todos los animales fueron considerados con una condición corporal ideal.

Los parámetros fisiológicos registrados en este grupo de gatos leopardo se expresa en la tabla 19.

Parámetro fisiológico	Media±DE	Min	Max	n
Peso de las hembras (kg)	1.69±0.1	1.6	1.8	2
Peso de los machos (kg)	2.34±0.07	2.3	2.45	3
Latidos por minuto	204.6±2.1	190	214	5
Respiraciones por minuto	22±1.4	20	26	5
Temperatura (°C)	37.8±0.06	37.7	38.1	5

Tabla 19. Parámetros fisiológicos de gatos leopardo anestesiados con una combinación de tiletamina-zolacepam (grupo 1). DE: desviación estándar. Min.: valor mínimo. Max.: valor máximo

La evolución de los parámetros fisiológicos observados durante la anestesia del grupo 1 de gatos leopardo se puede observar en la figura 20.

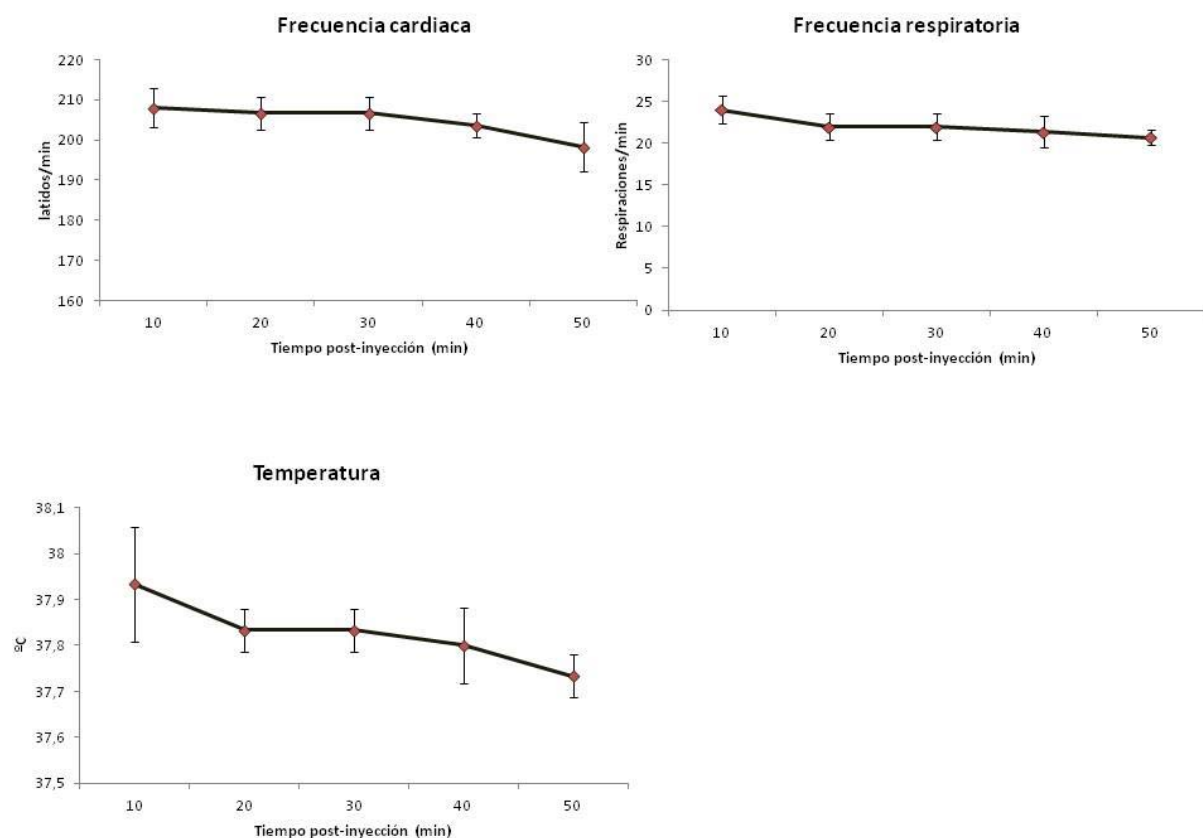


Figura 20. Frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura en gatos leopardo anestesiados con una combinación de tiletamina-zolacepam. Valores expresados como medias (\pm desviación estándar).

Grupo 2

El grupo 2 esta compuesto por 4 animales en los que la dosis media inicial de T-Z de 6.92 mg/kg fue insuficiente para obtener una relajación muscular total y la pérdida de conciencia necesarias para llevar a cabo todos los procedimientos. Por este motivo se decidió inyectar una dosis adicional de 3 mg/kg de T-Z en dos animales y 3 mg/kg de ketamina en otros dos animales una vez transcurridos 14 minutos después de la inyección de la dosis inicial de T-Z. Los parámetros fisiológicos registrados durante la anestesia de este grupo se muestran en la Tabla 20.

En el grupo 2 consideramos como tiempo de inducción el tiempo que transcurre desde la inyección de la dosis adicional de fármaco hasta que el gato leopardo descansa su cabeza en el suelo.

Todos los individuos pertenecientes a este grupo presentaron un tiempo de relleno capilar ≤ 2 segundos. La relajación muscular no fue considerada óptima en los individuos que recibieron ketamina como dosis suplementaria. Al igual que en los individuos del grupo 1, a todos los individuos de este grupo se les tomaron muestras de sangre y pelo para estudios genéticos así como medidas morfométricas. A todos los individuos se les colocó un collar-radiotransmisor. Todos los individuos presentaron una condición corporal ideal. Solo uno de los individuos de este grupo presentó una lesión en la piel asociada al proceso de captura. El examen médico del resto de los animales de este grupo no desveló ninguna anomalía asociada a la captura.

Parámetro fisiológico	Media \pm DE	Rango	Max	n
Peso de las hembras (kg)	1.75 \pm 0	1.75	-	1
Peso de los machos (kg)	2.27 \pm 0.02	2.1	2.45	3
Latidos por minuto	214.8 \pm 1.8	204	220	4
Respiraciones por minuto	22.2 \pm 0.7	20	24	4
Temperatura (°C)	38.3 \pm 0.05	37.8	38.8	4

Tabla 20. Parámetros fisiológicos de gatos leopardo anestesiados con una combinación de tiletamina-zolacepam seguido de dosis suplementarias (booster) de ketamina y tiletamina-zolacepam (grupo 2). DE: desviación estándar. Min.: valor mínimo. Max.: valor máximo

La evolución de los parámetros fisiológicos registrados en este grupo viene expresado en la figura 20 y en la figura 21.

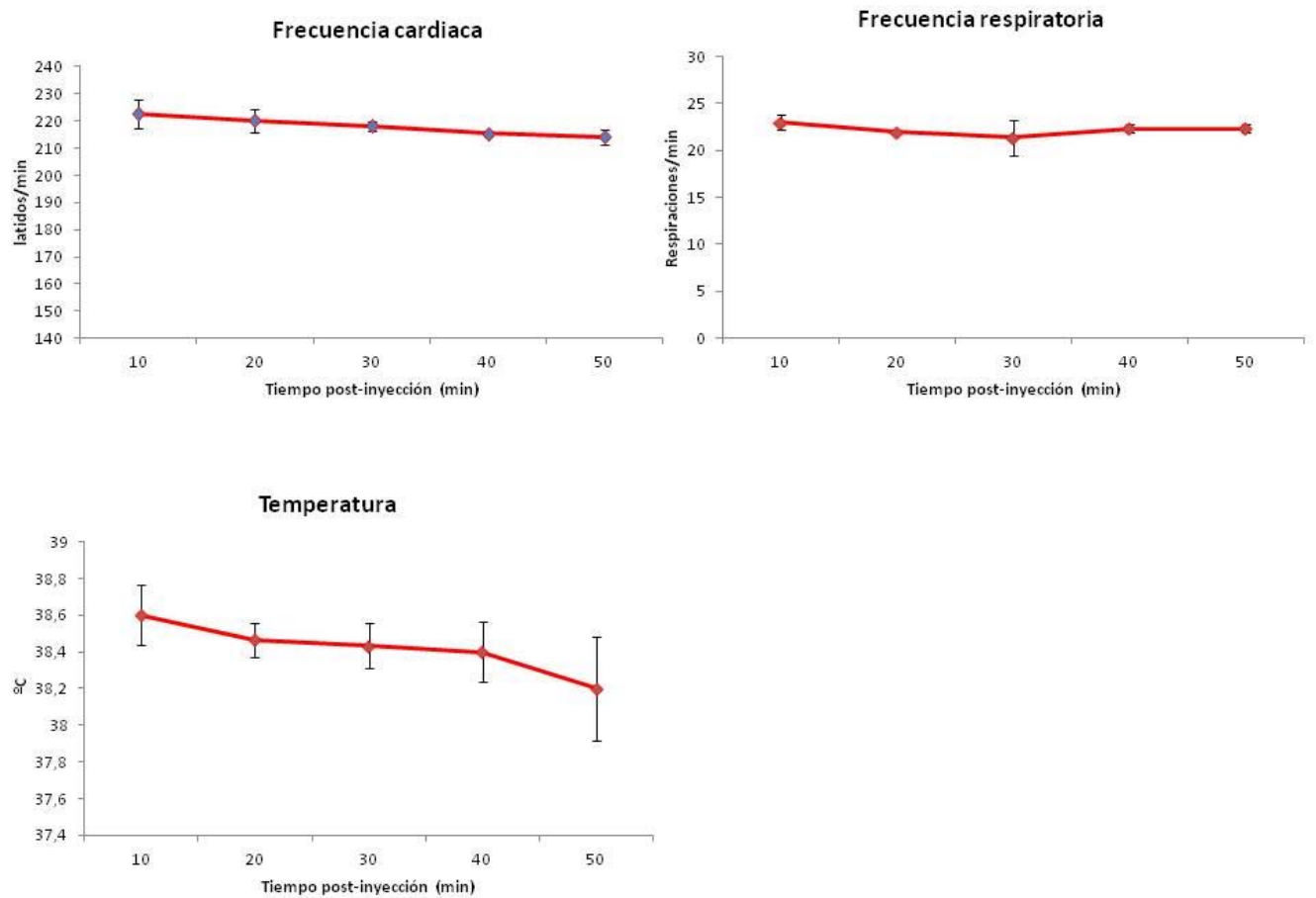


Figura 21. Frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura en gatos leopardo anestesiados con una combinación de tiletamina-zolacepam y con dosis adicional de tiletamina-zolacepam. Valores expresados como medias (\pm desviación estándar).

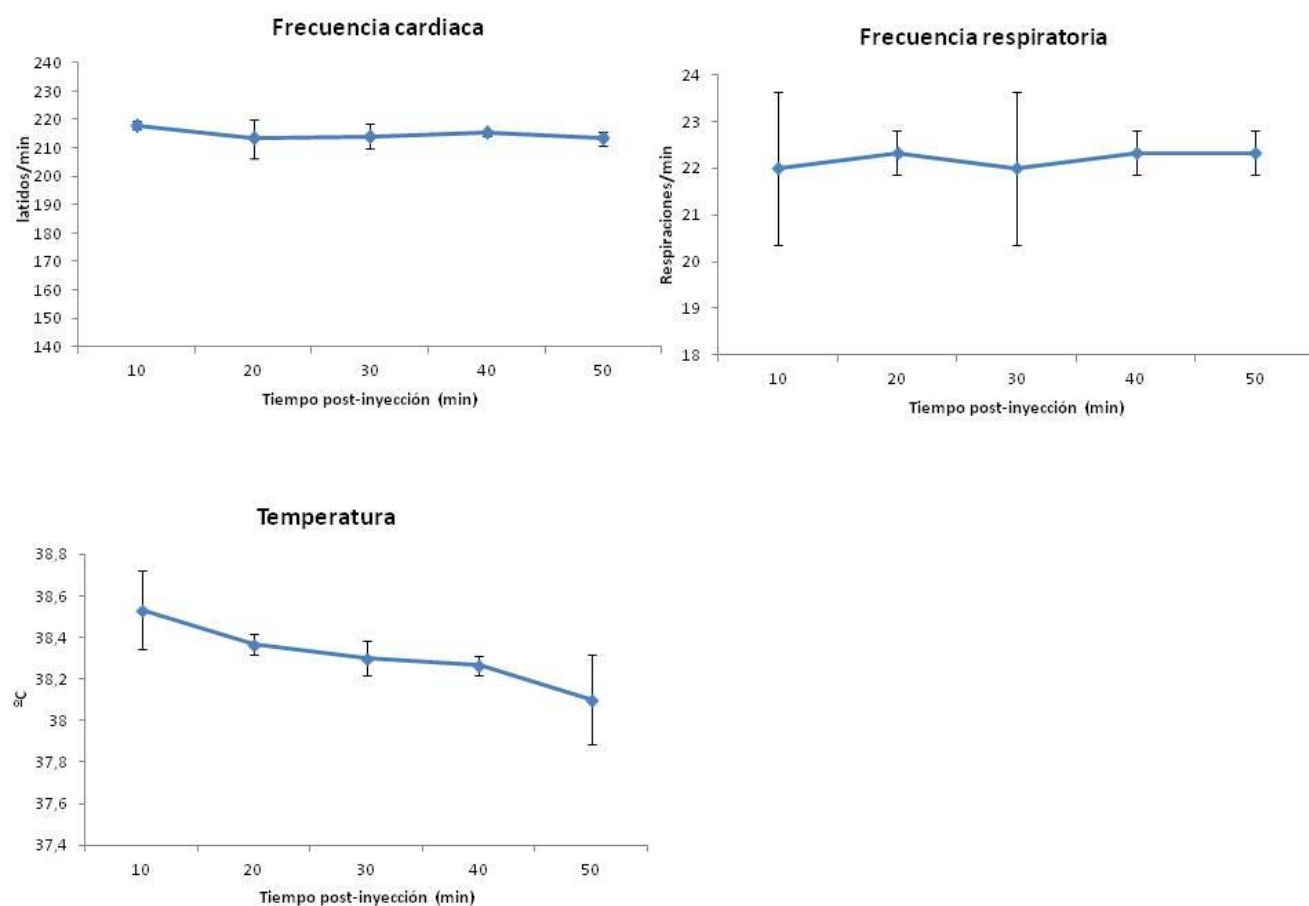


Figura 22. Frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura en gatos leopardo anestesiados con una combinación de tiletamina-zolacepam y con dosis adicional de ketamina. Valores expresados como medias (\pm desviación estándar).

4.4. Hematología y bioquímica sérica en panteras nebulosas Sunda

Nuestros resultados de 14 parámetros hematológicos en los que se incluyen los eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, plaquetas, leucocitos, neutrófilos segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y reticulocitos están expresados en la tabla 21

Hematología			
Parámetro (unidad)	n	Media±DE	Rango de referencia
Eritrocitos (10 ⁶ /μl)	11	7.55±1.09	5.37-9.73
Hematocrito (%)	11	43±0.6	41.8-44.2
Hemoglobina (g/dl)	9	13.1±1.5	10.1-16.1
VCM (fl)	9	58.41±4.59	49.23-67.59
HCM (pg)	9	17.21±1.29	14.63-19.79
CHCM (g/dl)	9	29.58±1.71	26.16-33
Plaquetas (10 ⁶ /μl)	7	0.26±0.10	0.06-0.46
Leucocitos(10 ³ /μl)	11	13.42±3.82	5.78-21.06
Neutrófilos segmentados (10 ³ /μl)	8	7.65±4.01	0-15.67
Linfocitos (10 ³ /μl)	7	3.08±1.57	0-6.22
Monocitos (10 ³ /μl)	8	1.95±2.27	0-6.49
Eosinófilos (10 ³ /μl)	6	0.9±0.93	0-2.76
Basófilos (10 ³ /μl)	4	0.3±0.25	0-0.8
Reticulocitos (%)	9	18.35±3.88	10.59-26.11

Tabla 21. Media, desviación estándar y rango de 14 parámetros hematológicos en pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*). DE: Desviación estándar.

Los resultados de los 26 parametros de bioquímica sérica en los que se incluyen calcio, fosforo, sodio, potasio, cloro, magnesio, hierro, urea, creatinina, acido úrico, bilirrubina, glucosa, colesterol, triglicéridos, creatinina quinasa, lactato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gamma glutamil transpeptidasa, amilasa, lipasa, proteínas totales, albuminas, globulinas y cortisol vienen representados en la tabla 22.

Bioquímica			
Parámetro (unidad)	n	Media±DE	Rango de referencia
Calcio (mg/dl)	7	9.16±0.56	8.04-10.28
Fósforo (mg/dl)	10	6.25±0.93	4.39-8.11
Sodio (mEq/l)	10	150.3±4.00	142.3-158.3
Potasio (mEq/l)	10	4.53±0.36	3.81-5.25
Cloro (mEq/l)	10	116.7±4.1	108.5-124.9
Magnesio (mEq/l)	3	1.13±0.02	1.09-1.17
Hierro (umol/L)	1	43.6	0-43.6
Urea (mg/dl)	11	21.76±8.15	5.46-38.06
Creatinina (mg/dl)	11	1.86±0.35	1.19-2.56
Ácido Úrico (mg/dl)	8	0.04±0.1	0-0.24
Bilirrubina total (mg/dl)	10	0.03±0.03	0 -0.06
Glucosa (mg/dl)	7	123.96±46.31	31.34-216.58
Colesterol (mg/dl)	9	87.39±27.06	33.27-141.51
Triglicéridos (mg/dl)	2	6.49±1.62	3.25-9.73
CK (UI/l)	7	347.85±172.54	2.77-692.93
LDH (UI/l)	7	517.28±350.69	0-1218.66
FA (UI/l)	11	23.81±11.23	1.35-46.27
ALT (UI/l)	11	64.09±32.46	0-129.01
AST (UI/l)	11	75.36±105.04	0-285.44
GGT (UI/l)	10	5.4±4.63	0-14.66
Amilasa (UI/l)	2	934.6±79.3	776-1093.2
Lipasa (UI/l)	2	8.45±0.15	8.15-8.75

Proteínas Totales (g/dl)	11	8.03±0.49	7.05-9.01
Albúmina (g/dl)	11	3.2±0.91	1.38-5.02
Globulina (g/dl)	11	4.82±1.02	2.78-6.86
Cortisol (nmol/l)	7	780.14±263.63	252.88-1307.4

Tabla 22. Media, desviación estándar y rango de 24 parámetros de bioquímica sérica y cortisol en pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*). DE: desviación estándar.

De los resultados obtenidos, los siguientes parámetros no siguieron una distribución normal y el rango de referencia estimado se consideró el intervalo entre el valor máximo y el valor mínimo. Los neutrófilos segmentados presentaron un rango estimado entre 3.2-16.1($\times 10^3/\mu\text{l}$); los linfocitos presentaron un rango estimado entre 0.2-5.3($\times 10^3/\mu\text{l}$); los monocitos se encontraron entre 0.16-7.4($\times 10^3/\mu\text{l}$); los eosinófilos presentaron un rango estimado entre 0-2.3($\times 10^3/\mu\text{l}$) y los basófilos se encontraron entre 0-0.6($\times 10^3/\mu\text{l}$).

El margen de referencia estimado para los parámetros que no siguieron una distribución normal fue el siguiente: ácido úrico 0.00-0.3 mg/dl; bilirrubina total 0.01-0.12 mg/dl; glucosa 70.27-225.23 mg/dl; CK 106-548 UI/l; LDH 134-1102 UI/l; ALT 30-142 UI/l; AST 16-401 UI/l; GGT 1-18 UI/l; cortisol 478-1338 nmol/l.

4.5. Hematología y bioquímica sérica en gatos leopardo de Borneo

Los resultados obtenidos de los 17 valores bioquímicos entre los que se incluyen colesterol total, triglicéridos, colesterol-HDL, colesterol-LDL, proporción de colesterol total y HDL, bilirrubina total, aspartato aminotransferasa, alanino aminotransferasa, fosfatasa alcalina, gamma glutamil transpeptidasa, sodio, potasio, cloro, urea, creatinina, calcio, fosforo, hematocrito y recuento de leucocitos de los gatos leopardo se muestran en la Tabla 23.

Parámetro (unidad)	n	Media±DE	Rango de referencia
Colesterol total (mg/dl)	6	159.46±46.33	66.8-252.12
Triglicéridos (mg/dl)	6	19.31±6.56	6.19-32.43
Colesterol- HDL (mg/dl)	6	77.99±33.98	10.03-145.95
Cholesterol-LDL (mg/dl)	6	72.20±33.2	5.8-138.6
Colesterol Total/ HDL Ratio	6	2.28±1.10	0.08-4.48
Bilirrubina total (mg/dl)	6	0.03±0.01	0.01-0.05
AST (UI/l)	6	269±141.86	0-552.72
ALT (UI/l)	6	121±43.43	34.14-207.86
FA (UI/l)	6	99.80±211.98	0-523.76
GGT (UI/l)	6	4.60±1.34	1.92-7.28
Na (mEq/l)	6	149±4.86	139.28-158.72
K (mEq/l)	6	4.28±0.44	3.4-5.16
Cl (mEq/l)	6	117.67±3.50	110.67-124.67
Urea (mg/dl)	6	36.41±12.49	11.43-61.39
Creatinina (mg/dl)	6	1.05±0.12	0.81-1.29
Ca (mg/dl)	6	8.20±1.72	4.76-11.64
P (mg/dl)	6	5.63±1.02	3.59-7.67
Hematocrito (%)	4	31±0.06	30.88-31.12
Leucocitos (10 ³ /μl)	4	12.07±5.35	1.37-22.77

Tabla 23. Valores de bioquímica sérica y hematología medidos para gatos leopardo de Borneo salvajes capturados mediante jaulas trampa. DE: desviación estándar.

Los valores que no siguieron una distribución normal y de los que su rango de referencia estimado fue considerado el intervalo entre el valor máximo y mínimo fueron: AST 94-461 UI/l y FA 5-479 UI/l.

4.6 Masa corporal de cachorros de panteras nebulosas criadas en cautividad

El tamaño y número de camadas de panteras nebulosas nacidas en cautividad desde el año 2003 hasta el 2012 viene expresado en la tabla 24.

	Camadas de un solo cachorro	Camadas de dos cachorros	Camadas de tres cachorros	Camadas de cuatro cachorros
Número de camadas (2003-2012)	3	15	5	1
Numero de cachorros	3 (1†)	30 (2†)	15	4

Tabla 24. Tamaño y número de camadas de panteras nebulosas nacidas en cautividad durante el estudio.

†: Cachorros que nacieron muertos o murieron antes de poder ser incluidos en el estudio.

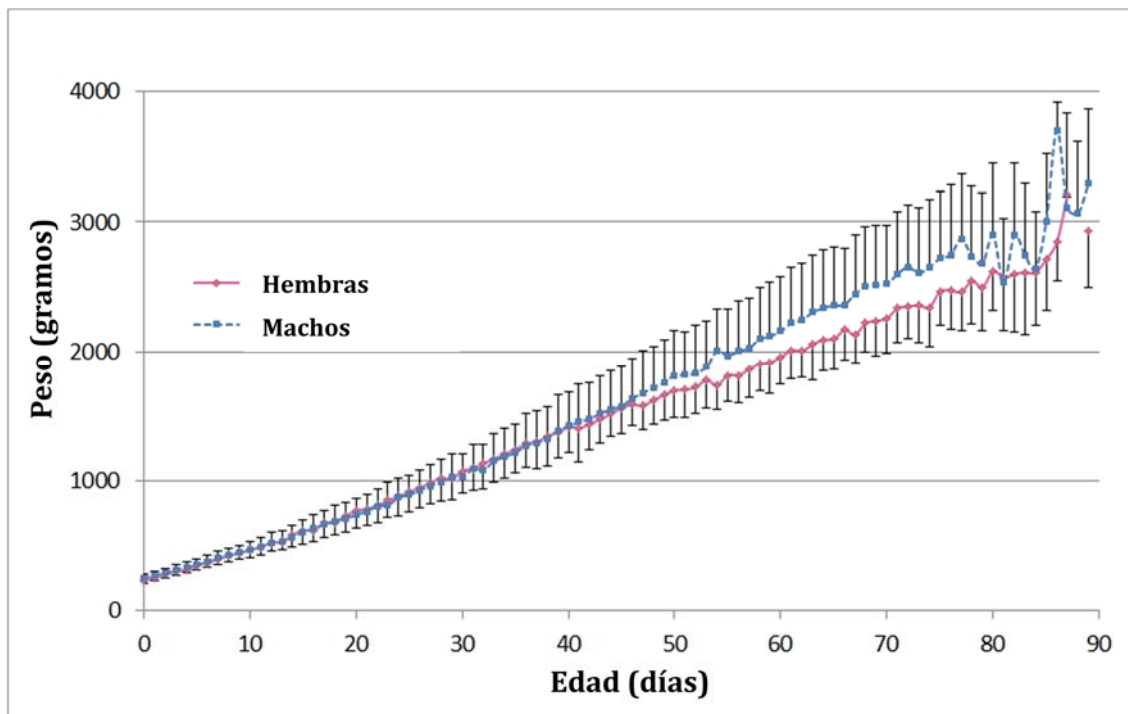
La diferencia en los pesos al nacimiento entre machos y hembras resultó ser estadísticamente significativa ($P=0.006$).

El peso de los machos al nacer fue de 261.88 gramos \pm 30.57 (rango: 190 a 349.7 gramos); el peso de las hembras al nacer fue de 232.47 gramos \pm 34.81 (rango: 142.0-288.4 gramos).

La tasa de crecimiento diario (\pm desviación estándar) obtenida a partir de los 31 cachorros que no presentaron ningún síntoma gastrointestinal (GI) durante el proceso de cría artificial fue de 33.1 ± 1.1 gramos (95% intervalo de confianza: 3.0; 35.2). La tasa de crecimiento diario (\pm desviación estándar) para los machos durante todo el procedimiento de cría fue de 34.6 ± 1.4 gramos [intervalo de confianza del 95%: 31.9; 37.2]. La tasa de crecimiento diario (\pm desviación estándar) para las hembras fue de 30.0 ± 1.2 gramos (intervalo de confianza del 95%: 27.5; 32.4).

Para los cachorros que sufrieron síntomas gastrointestinales ($n = 18$), la tasa de crecimiento diario (\pm desviación estándar) fue de 30.3 ± 2.3 gramos (intervalo de confianza del 95%: 25.8; 34.7).

La evolución de la masa corporal de 31 cachorros de pantera nebulosa criados en cautividad durante los primeros tres meses de vida y que no sufrieron síntomas gastrointestinales durante la cría artificial viene representada en la grafica 1.



Grafica 1. Tasa de crecimiento de 31 (21 machos, 10 hembras) cachorros de pantera nebulosa criados artificialmente durante los primeros tres meses de edad. Las barras de error representan un intervalo de confianza del 95%.

Los promedios de las tasas de crecimiento diario de acuerdo con las tres etapas de cría artificial de cachorros de pantera nebulosa que no presentaron sintomatología gastrointestinal se resume en la tabla 25. En la etapa 1 los cachorros fueron alimentados solo a base de fórmula láctea. Esta etapa comprendía desde el nacimiento hasta el día 28 de vida. En la etapa 2 los cachorros se alimentaron con fórmula láctea suplementada con potitos de pavo comerciales. Esta etapa se extendía desde el día 29 de vida hasta el día 42. En la etapa 3 los cachorros se alimentaron con fórmula láctea (que fue disminuyendo progresivamente) y carne de pollo o ternera. Esta etapa comenzaba el día 43 de vida y se prolongaba hasta el día 90, momento en el cual los animales eran alimentados ya sin fórmula.

	TCD ± DE (gramos)	95% intervalo de confianza
Etapa 1 (fórmula láctea)	26.8±1.1	24.7; 29.0
Etapa 2 (leche + potito de pavo)	34.3±1.6	31.0; 37.5
Etapa 3 (leche + carne)	36.1±1.6	32.9; 39.3

Tabla 25. Tasa de crecimiento diario en 31 (21 machos, 10 hembras) cachorros de pantera nebulosa durante las 3 etapas de cría de acuerdo con el cambio en la dieta. TCD ± DE= tasa de crecimiento diario ± desviación estándar (gramos).

En la tabla 26 se pueden observar los promedios de las tasas de crecimiento diario de acuerdo con las tres etapas de cría artificial de 18 cachorros de pantera nebulosa que presentaron signos gastrointestinales durante cualquiera de las etapas de la cría artificial.

	TCD ± DE (gramos)	95% intervalo de confianza
Etapa 1 (fórmula láctea)	25.9±2.3	21.2; 30.5
Etapa 2 (leche + potito de pavo)	34.3±2.4	29.6; 39.0
Etapa 3 (leche + carne)	31.1±2.6	26.0; 36.2

Tabla 26. Tasa de crecimiento diario en 18 (8 machos, 10 hembras) cachorros de pantera nebulosa que presentaron síntomas gastrointestinales durante cualquiera de las etapas de cría de acuerdo con el cambio en la dieta. TCD ± DE = tasa de crecimiento diario ± desviación estándar (gramos).

Los promedios de los pesos de los cachorros de pantera nebulosa al final de la lactancia artificial según el sexo y la presentación o no de sintomatología digestiva vienen representados en la tabla 27.

	Machos (n = 29)	Hembras (n = 20)	Grupo sano (n = 31)	Grupo con síntomas gastrointestinales (n = 18)
Peso±DE (gramos)	3183.16 ± 754.76	2726.32 ± 543.24	3173.04 ± 591.72	2598.67 ± 739.86

Tabla 27. Peso medio± desviación estándar (gramos) en cachorros de pantera nebulosa al final del período de lactancia artificial acorde con el sexo y con la presentación de sintomatología digestiva. DE: Desviación estándar.

5. DISCUSIÓN

5.1. Captura de panteras nebulosas Sunda y gatos leopardo mediante el uso de jaulas-trampa

En nuestro estudio utilizamos jaulas trampa de dimensiones y materiales diferentes acorde con la especie a capturar. En este estudio solo utilizamos jaulas trampa y no pudimos comparar la seguridad de este tipo de trampas con respecto a otros como cepos acolchados o lazos. En otros estudios de captura de felinos de tamaño medio en los que si fue posible comparar diferentes metodologías, se prefirió el uso de jaulas trampa al resultar la opción mas segura para los individuos capturados (Kolbe *et al.*, 2003).

Nuestras jaulas trampa fueron construidas de manera artesanal debido principalmente al coste del transporte de jaulas comerciales del tipo Tomahawk Trap Company, Havahart o Duke Trap Company a la isla de Borneo. Otros investigadores también han utilizado trampas caseras con buenos resultados (Kolbe *et al.*, 2003). Nuestras trampas para gatos leopardo consistían en un esqueleto metálico en forma de caja que era cubierto por malla gallinera. El esqueleto metálico consistía en hierro forjado electro soldado por soldadores profesionales de la zona. Kolbe *et al.* (2003), que también utilizó malla gallinera para sus trampas, empleo tubería de plástico como esqueleto de la estructura. Debido a las condiciones ambientales, creemos que un esqueleto de plástico para nuestras trampas no hubiera aguantado la temperatura o humedad en nuestra zona de captura por mucho tiempo, teniendo en cuenta que nuestras trampas eran además almacenadas en zonas al aire libre, solo cubiertas por un tejado en el mejor de los casos. En el caso de las trampas empleadas para las panteras, unas jaulas construidas a partir de malla gallinera y plástico no hubieran aguantado los embistes de los individuos cuando intentan escapar, considerando además que los individuos podían estar atrapados por tiempos superiores a las 12 horas. Por esta razón, las trampas construidas para esta especie eran más robustas y pesadas. Las trampas para las panteras no solo debían ser robustas para aguantar a los individuos dentro de las trampas y evitar fugas, sino que también tenían que ser suficientemente fuertes como para resistir las arremetidas de elefantes salvajes el caso de que apareciesen en el área de captura.

Ninguna de las panteras capturadas con nuestras trampas presentó heridas o fracturas en la dentición como consecuencia del proceso de captura. Furtado *et al.* (2008) no recomienda este método de captura para felinos de tamaño grande, como los jaguares, precisamente debido a la posibilidad de fracturarse los caninos cuando intentan escapar. En las panteras donde observamos fracturas de alguno de los caninos, estas fracturas se consideraron como fracturas antiguas y no asociadas a la captura, por lo que asumimos que esta especie no utiliza la boca para romper la malla para intentar escapar.

En el caso de los gatos leopardo, solo un individuo presentó una laceración en la piel de la zona frontal de la cabeza. En este caso creemos que este episodio ocurrió muy

probablemente debido a que este individuo fue atrapado en una jaula destinada a pantera nebulosa.

Al ser estas jaulas de gran tamaño, puede que el gato leopardo chocara con la cabeza con una de las paredes de la jaula al correr de un lado a otro de la trampa cuando intentaba escapar.

Este individuo (LCM6) fue el único gato leopardo que fue atrapado en una jaula de pantera. El resto de gatos leopardo fue atrapado en las jaulas de pequeñas dimensiones que además presentaban una malla recubierta por plástico para evitar precisamente este tipo de lesiones que pudieran ocurrir durante el tiempo de confinamiento previo al manejo de los individuos. Diferentes investigadores han observado también la posibilidad de producirse este tipo lesiones traumáticas en la cara o en las garras o almohadillas al utilizar este tipo de trampas con carnívoros (Arthur, 1988; Mowat *et al.*, 1994; Blundell *et al.*, 1999; Way *et al.*, 2002; Frank *et al.*, 2003; Powell y Proulx, 2003; Woodroffe *et al.*, 2005; Michalski *et al.*, 2007; Muñoz-Igualada *et al.*, 2008; McCarthy *et al.*, 2013).

En nuestro estudio, el éxito de captura para pantera nebulosa fue del 1.49% y para gato leopardo del 8.3%. Aunque no hemos encontrado en la literatura porcentajes de éxito de captura para especies de felinos neotropicales, McCarthy *et al.* (2013) en su revisión de metodología de capturas para estas especies destaca el gran esfuerzo dedicado (expresado en número de noches de captura) para atrapar un bajo número de individuos, siendo este número de capturas incluso más bajo en ambientes tropicales debido a la falta de información en cuanto a los protocolos de captura utilizados en este tipo de ecosistemas.

Esta es la primera vez que la pantera nebulosa Sunda ha sido capturada con éxito con propósitos científicos y de conservación. No hemos encontrado en la literatura ninguna metodología de captura para esta especie, lo que ha contribuido al bajo éxito de captura. Este bajo éxito de captura no se debe solo al desconocimiento en cuanto a trampas, cebos o atrayentes adecuados para esta especie sino también a la baja densidad de este felino en la zona de estudio.

La tasa de captura de la jaula trampa (TC) se calculó para pantera nebulosa Sunda al estar las trampas video-vigiladas por cámara trampa durante el período de capturas que tuvo lugar en el Santuario de Vida Salvaje del Kinabatangan Bajo. La tasa de captura en nuestro estudio fue de casi el 75% lo que significa que de cuatro individuos que entraron total o parcialmente en la trampa, 3 fueron atrapados con éxito. Los errores de las capturas encontrados con las jaulas trampa de doble guillotina fueron principalmente dos: que la pantera entrara en la jaula hasta el límite de la plataforma-pedal que activa las guillotinas y que por tanto no activara el mecanismo de cierre; o que la pantera pisara exactamente en el centro exacto de la plataforma pedal, el cual no activa dicho mecanismo de cierre de las guillotinas.

Mientras que el primer fallo de la jaula trampa podría ser subsanado en futuras capturas acortando la longitud total de la jaula trampa, en el segundo caso solo el azar podía cambiar el desenlace de la captura.

Si se optara por acortar la longitud de la jaula trampa, se tendría que tener en cuenta que podría existir la posibilidad de dañar la cola de la pantera al caerle la guillotina encima.

En nuestro caso, el coste, el número del personal requerido para colocar las trampas en el campo, el esfuerzo físico para dicho fin y la baja selectividad en cuanto a la especie a capturar son factores que pueden influir negativamente en la elección de este tipo de dispositivos para la captura de felinos en bosques tropicales. Otro aspecto negativo observado por diferentes investigadores es que los felinos se pueden mostrar reacios a entrar en este tipo de trampas y recomiendan otros métodos de físicos de captura con estas especies (Mowat *et al.*, 1994; Catling *et al.*, 1997; Blundell *et al.*, 1999; Way *et al.*, 2002; Frank *et al.*, 2003; Shivik *et al.*, 2005).

Aun teniendo en cuenta esos factores, debido a la baja posibilidad de producir lesiones relacionadas con la captura en las panteras nebulosas Sunda y en gatos leopardo, recomendamos la jaula trampa como un método adecuado, seguro y eficaz para la captura de estas especies en Borneo.

5.2. Anestesia de panteras nebulosas Sunda

Entre los tiempos registrados durante las anestесias de las panteras, encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) en los tiempos de inducción, anestesia y recuperación. La anestesia con T-Z muestra tiempos de inducción significativamente más cortos y tiempos de anestesia y recuperación significativamente más largos que en la anestesia con M-K, aunque resulta obvio que el tiempo de anestesia en el grupo de M-K viene marcado por la administración de atipamezol (tabla 28). En posteriores trabajos con esta especie se podría sugerir que no se utilizaran antidotos en la anestesia para poder realizar una mejor comparación en los tiempos de anestesia.

	M-K	T-Z	P
Dosis (mg/kg)	0.04M-3.3K	8	
Tiempo de inducción	7.5±3.3	5.7±3	*0.048
Tiempo de anestesia	66.5±14.9	347±162.9	*0.024
Tiempo de antídoto	11.2±1.4	N/A	N/A
Tiempo de recuperación	21±11.6	30.3±5.4	*0.024

Tabla 28. Tiempos registrados durante la anestesia de panteras nebulosas Sunda con dos combinaciones anestésicas. M-K: Medetomidina-Ketamina; T-Z: Tiletamina-Zolacepam. Tiempo expresado en minutos (media ± desviación estándar). *Valores de $P \leq 0.05$ son estadísticamente significativos.

Grupo T-Z

En nuestro estudio empleamos tiletamina-zolacepam para la anestesia de 7 panteras nebulosas. La tiletamina y el zolacepam han sido empleados como combinación farmacológica para la anestesia de una gran variedad de especies no domésticas (Kreeger, 2002). En felinos exóticos, esta combinación también ha sido empleada con éxito en un gran número de especies, y su uso ha sido solo contraindicado en tigres por algunos autores, aunque no sin polémica puesto que en un estudio de Kreeger y Armstrong (2010) tan solo un 1.3% de mortalidad fue registrado en esta especie tras el empleo de esta combinación. En nuestro estudio no registramos mortalidad en ninguno de los individuos asociado al uso de esta combinación.

En felinos salvajes del Sudeste Asiático, la tiletamina y el zolacepam ha sido utilizado en pantera nebulosa, gato leopardo, gato jaspeado y gato dorado asiático (Grassman *et al.*, 2004).

En el caso de la anestesia de las panteras nebulosas, la combinación de T-Z fue preferida a la de xilacina y ketamina debido a los cortos períodos de inducción y pequeño volumen de anestésico a administrar (Grassman *et al.*, 2004).

Sin embargo, los tiempos anestésicos mostrados con la dosis propuesta por Grassman *et al.* (2004) de 10 mg/kg en panteras nebulosas salvajes resultaron en tiempos de anestesia y recuperación más largos de lo que un procedimiento de radio-marcaje y toma de muestras requiere.

Durante nuestro estudio, una de las panteras nebulosas Sunda salvajes recibió una dosis de T-Z de 10.8 mg/kg lo que resultó en un tiempo anestésico de 522 minutos. Debido a esa circunstancia, se decidió disminuir la dosis de T-Z a administrar en el resto de los individuos de este grupo. La T-Z tiene un amplio margen de seguridad como ha quedado demostrado en otros estudios con felinos salvajes (Fahlman *et al.*, 2005) y en nuestro caso el rango de dosis administrado varió entre 6.8 y 10.8 mg/kg, obteniendo tiempos de anestesia menos prolongados cuando la T-Z se empleó en el rango de dosis más bajas (220 minutos a dosis de 6.8 mg/kg). Los tiempos de recuperación más largos en el caso de la combinación de T-Z en felinos, suelen ser atribuidos a los efectos del zolacepam, el cual tiene una vida media plasmática de 4.5 horas, que es más larga que la de la tiletamina (Lin *et al.*, 1993; Fahlman, 2008).

Aunque Grassman *et al.* (2004) no observó rigidez muscular en ninguna de las panteras anestesiadas con tiletamina y zolacepam, en nuestro estudio, un macho (M1-CI) si presentó rigidez muscular en el tercio posterior. Probablemente las diferencias encontradas en cuanto a la relajación muscular deriven de la dosis total administrada, puesto que Grassman *et al.* (2004) utilizó dosis de 10.1 mg/kg y este único macho de nuestro estudio que presentó rigidez muscular recibió una dosis total de 6.8 mg/kg.

En nuestro estudio, los tiempos de anestesia fueron considerablemente más prolongados que el tiempo de trabajo con los individuos requería. En nuestro caso, tiempos de trabajo de una hora resultaron ser suficientes para el manejo de nuestras panteras. Grassman *et al.* (2004) muestra en su estudio unos tiempos de anestesia de 124.7 ± 11.4 minutos. Para anestesias realizadas en condiciones de campo, el tiempo necesario para que el investigador realice la toma de muestras biológicas, tome medidas morfométricas y coloque el radio collar en el individuo capturado no suele exceder de los 60 minutos, siendo 45 minutos un tiempo considerable como aceptable por algunos autores (Walzer y Huber, 2003); por lo que tiempos significativamente superiores alargan la vuelta del animal a su ambiente y requieren de personal cualificado hasta que el animal es liberado.

Cuando se anestesian felinos en condiciones de campo, la T-Z es una combinación farmacológica de elección frecuente debido a sus tiempos de inducción más cortos y a su margen de seguridad mas amplio, pero hay que tener en cuenta que los tiempos de anestesia y recuperación resultan ser excesivamente elevados cuando se emplean un rango de dosis cercanas a los 10 mg/kg, retrasando la liberación del animal a su medio y

necesitando personal cualificado para la observación del individuo durante el proceso de recuperación.

Las diferencias en los tiempos anestésicos mostradas entre el estudio de Grassman *et al.* (2004) y el presente, pueden ser debidas tanto a la dosis de la combinación administrada como a diferencias entre ambas especies, ya que este estudio es el primero en establecer los tiempos anestésicos en la pantera nebulosa Sunda (tabla 29).

	<i>Neofelis diardi</i>	<i>Neofelis nebulosa</i> (Grassman <i>et al.</i> , 2004)
Dosis (mg/kg)	8	10.1
Tiempo de inducción	5.7±3	3.0±1.5
Tiempo de anestesia	347±162.9	124.7±11.4
Tiempo de recuperación	30.3±5.4	60.7±31.6

Tabla 29. Tiempos de inducción, anestesia y recuperación durante la inmovilización química de panteras nebulosas (*N. diardi* y *N. nebulosa*) con una combinación de tiletamina y zolacepam. Tiempos expresados en minutos (media ± desviación estándar).

A la vista de los resultados obtenidos a partir de este estudio, la dosis de 8 mg/kg podría resultar ser adecuada para trabajar con panteras en situaciones de campo, resultando en tiempos anestésicos suficientes para llevar a cabo todo el proceso de radio-marcaje y toma de muestras. Dosis cercanas a los 6 mg/kg también resultarían indicadas para obtener tiempos de anestesia adecuados si lo que se persigue es un mínimo tiempo de trabajo con el individuo y una liberación rápida a la naturaleza. Debido al número bajo de individuos de este estudio y al amplio rango de dosis empleado, se consideraría necesario realizar más estudios anestésicos de esta especie con esta combinación farmacológica.

Grupo M-K

No hemos encontrado disponibles en la literatura estudios farmacológicos empleando la combinación de medetomidina y ketamina en panteras nebulosas Sunda y solo existen dosis de esta combinación para el manejo anestésico de panteras nebulosas continentales en cautividad (Fletcher, 2000).

Nuestro estudio ha sido el primero en investigar los efectos farmacológicos de esta combinación en esta especie. Utilizamos dosis más bajas que aquellas descritas en la

literatura para panteras nebulosas continentales, en las que se recomiendan dosis de 0.05-0.08 mg/kg de medetomidina (Fletchall, 2000). Nuestro objetivo fue el de utilizar las dosis más bajas posibles que mantuvieran a los individuos en un plano anestésico adecuado para llevar a cabo todos los procedimientos de toma de muestras y colocación de radio-collares.

Esta combinación anestésica ha sido empleada en numerosas especies de carnívoros salvajes (Jalanka y Roenken, 1990; Kreeger, 2002). La anestesia con esta combinación en felinos no domésticos produce inducciones y recuperaciones suaves, con tiempos de inducción cortos, con un rango entre los 5 y los 15 minutos, con una buena relajación muscular (Gunkel y Lafortune, 2007). Al igual de lo mostrado por previos estudios, el tiempo de inducción en nuestro caso comprendió entre los 3 y 14 minutos. Las dosis empleadas para la anestesia en felinos exóticos depende del tamaño de la especie. En grandes felinos las dosis varían entre los 1.5 a 6 mg/kg de ketamina y de 0.02 a 0.06 mg/kg de medetomidina, y en felinos pequeños las dosis varían entre 2.5 a 4.5 mg/kg de ketamina y 0.05 a 0.07 mg/kg de medetomidina (Tomizawa *et al.*, 1997; Forsyth *et al.*, 1999; Nielsen, 1999; Miller *et al.*, 2003; Wack, 2005; Gunkel y Lafortune, 2007). En nuestro estudio pretendimos trabajar con regímenes bajos para las dosis de ambos fármacos.

El disminuir la dosis de medetomidina perseguía el objetivo de evitar la mayoría de efectos adversos de este fármaco y lo conseguimos con nuestras panteras, puesto que no observamos alguno de los efectos adversos registrados en otros felinos salvajes al emplear esta combinación tales como vómitos durante la inducción, cambios cardiovasculares como bradicardia o bradiarritmias o descenso del gasto cardíaco y depresión respiratoria (Klein y Klide, 1989; Jalanka y Roeken, 1990; Pypendop *et al.*, 1996; Deem y Citino, 1998; Forsyth *et al.*, 1999; Pypendop y Verstegen, 1999; Lamont *et al.*, 2001; Sinclair, 2003; Curro *et al.*, 2004; Gunkel y Lafortune, 2007).

Todos los individuos anestesiados con esta combinación y dentro del rango propuesto en este estudio de 0.039-0.054 mg/kg, presentaron una excelente relajación muscular. Aunque Grassman *et al.* (2004) no empleó medetomidina en su estudio, si que utilizó otro agonista α -2 adrenérgico, la xilacina con una dosis de 1.55 mg/kg, combinado con ketamina con una dosis de 19.25 mg/kg y no obtuvo buena relajación muscular en la tres panteras nebulosas continentales que anestesió.

En nuestro estudio, la dosis media de medetomidina de 0.042 mg/kg y la dosis media de ketamina de 3.33 mg/kg, resultaron ser efectivas, con la ventaja de utilizar antídoto, lo que acortó considerablemente los tiempos de anestesia y recuperación. Los tiempos de inducción resultaron ser estadísticamente más largos con el uso de esta combinación que con el uso de tiletamina-zolacepam, aunque esto no supone mayor problema si se utiliza en condiciones de cautividad o si se emplea en panteras salvajes capturadas con jaula-trampa, ya que el animal no tiene posibilidad de huir o de desaparecer de la vista del investigador.

Las panteras que fueron anestesiadas aquí con esta combinación presentaron un tiempo medios de inducción de 7.5 minutos, mientras que tras el empleo de tiletamina-zolacepam este tiempo se redujo a 5.7 minutos. De manera similar, Grassman *et al.* (2004) experimentó tiempos de inducción mas largos con el uso de un agonista α -2 adrenérgico (xilacina) y ketamina (tiempo medio de 5.3 minutos) que con el uso de tiletamina-zolacepam (tiempo medio de 3 minutos). Otros autores han sido capaces de disminuir los tiempos de inducción mediante el empleo conjunto de medetomidina y tiletamina-zolacepam en otras especies de felinos y utilizando bajas dosis de tiletamina-zolacepam. Fahlman *et al.* (2005) utilizó la combinación de medetomidina-tiletamina-zolacepam en leones salvajes y observó los efectos del fármaco en un tiempo medio de 3.4 minutos. Tras un tiempo medio de 5.9 minutos los animales podían ser manejados. Tambien con leones, Quandt (1992) empleó solo medetomidina y ketamina y obtuvo tiempos de inducción entre 3.5 y 10 minutos.

Con el uso de M-K el tiempo de trabajo efectivo con los individuos fue de 60 minutos y solo en una anestesia se necesitaron 90 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de trabajo se administró el antídoto. El atipamezol se inyectó a dosis 0.2 mg/kg, lo que supone ser 5 veces la dosis de medetomidina inyectada. Aunque esta dosis se ha empleado en gatos y leones, ha ido vinculada a taquicardia (Jalanka y Roenken, 1990; Verstegen *et al.*, 1991; Tomizawa *et al.*, 1997; Bengis y Keet, 2000; Kreeger, 2002) por lo que aún siendo efectiva en panteras, se recomienda en un futuro el estudio de dosis más bajas. La vía de administración elegida para el atipamezol fue la intramuscular, para evitar cambios severos a nivel cardiovascular y para evitar un super-excitamiento durante el período de recuperación, que observaron Jalanka y Jalanka y Roenken (1990) Sinclair (2003) al administrar atipamezol por vía endovenosa. Una vez administrado, las panteras mostraron efectos del fármaco en menos de 13 minutos como parpadeo, movimientos del pabellón auricular y movimientos de cabeza.

Todos los animales intentaron incorporarse, permaneciendo en estación tras una media de 21 minutos. Estos tiempos de recuperación tan cortos facilitaron la suelta de los animales a la naturaleza en un menor tiempo que cuando se empleó la combinación de T-Z.

No hemos encontrado estudios de anestesia en panteras nebulosas Sunda asi como literatura sobre los parámetros fisiológicos (frecuencias cardiaca, respiratoria y temperatura corporal) registrados durante la anestesia en panteras nebulosas continentales, parientes más próximos a las panteras nebulosas Sunda.

Entre los grupos estudiados, encontramos diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias cardíacas de ambos grupos, siendo estadísticamente más baja en el caso del grupo M-K. Esto se debe principalmente a los efectos adversos en el sistema

cardiovascular de la medetomidina (Jalanka y Roenken, 1990; Sinclair, 2003). En cualquier caso, no consideramos como bradicardia las frecuencias cardíacas registradas en el grupo M-K, que variaron entre 74 y 109 latidos por minuto. La medetomidina es responsable de causar también vasoconstricción periférica e hipotensión, lo que dificultó en ocasiones en nuestro estudio la visualización de venas periféricas para la extracción de sangre coincidiendo con las observaciones de otros autores (Kreeger, 2002; Fahlman *et al.*, 2005; Plumb, 2005)

También se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la temperatura de los animales anestesiados, siendo más baja en el grupo T-Z. El grupo M-K presentó una temperatura media de 38.6°C mientras que la temperatura media observada en el grupo T-Z fue de 37.5°C. Esta diferencia la atribuimos más a condiciones ambientales más que a un efecto farmacológico en sí. Todos los individuos pertenecientes al grupo M-K fueron anestesiados en condiciones de campo. En zonas cálidas y húmedas, las panteras jadean como mecanismo para regular su temperatura y eliminar calor. Durante el período anestésico, la respuesta de jadeo se ve comprometida, lo que hace que pueda aumentar la temperatura corporal del individuo anestesiado o incluso causar hipertermia. En nuestro estudio, una pantera del grupo M-K fue anestesiada en las horas centrales del día, lo que incrementó su temperatura hasta 39.8°C, aunque se logró disminuir esta temperatura para evitar la hipertermia.

En las frecuencias respiratorias no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. El rango mostrado con la combinación de M-K fue de 8 a 36 respiraciones por minuto y con la combinación de tiletamina-zolacepam se observaron de 10 a 26 respiraciones por minuto. Este rango es similar a los encontrados por Fahlman *et al.* (2005) durante su trabajo con leones salvajes anestesiados con una combinación de medetomidina-tiletamina-zolacepam en los que observó un rango de 14 a 34 respiraciones por minuto.

La saturación parcial de oxígeno registrada en nuestros dos grupos no difirió significativamente, manteniéndose en niveles adecuados durante el período anestésico (rango de 87-99% en ambos grupos). Algunos autores destacan que la vasoconstricción periférica o la hipotensión (inducida por la medetomidina) pueden afectar al buen funcionamiento de los pulsioxímetros (Reich *et al.*, 1996; Fahlman *et al.*, 2005). Durante las anestesias de las panteras no observamos una perfusión sanguínea periférica disminuida comprobada por los tiempos de relleno capilar inferiores a 2 segundos y al observar mucosas rosadas durante el período anestésico.

De los resultados de este estudio se deduce ambos protocolos anestésicos son seguros para la anestesia de panteras nebulosas Sunda. Ambas combinaciones ofrecen inducciones rápidas y suaves. Dosis de 8 mg/kg de T-Z producen tiempos de anestesia prolongados adecuados para llevar a cabo procedimientos más largos que toma de muestras y colocación de radio-collares. Dosis de 0.04 mg/kg de medetomidina y 3 mg/kg de ketamina producen un plano anestésico adecuado para llevar a cabo procedimientos rutinarios en campo o en zoo, sin verse comprometido el sistema cardiovascular del animal.

Aunque atipamezol a 5 veces la dosis de medetomidina revierte la anestesia, sería necesario evaluar el empleo de dosis menores para evitar la posible aparición de taquicardia en los pacientes.

Los valores obtenidos en nuestro estudio de los parámetros fisiológicos pueden ser utilizados para hacer frente a alteraciones potenciales que pudieran aparecer durante el período anestésico en esta especie.

5.3. Anestesia de gatos leopardo de Borneo.

Los gatos leopardo han sido objeto de estudios ecológicos en Tailandia y en Borneo (Rabinowitz, 1990; Grassman *et al.*, 2004; Rajaratnam *et al.*, 2007) para los cuales ha sido necesario su inmovilización química. La tiletamina y el zolacepam han sido empleados comúnmente en estos estudios con dosis variable entre los 7.5 y 12 mg/kg. Solo Grassman *et al.* (2004) detalla los efectos del uso de esta combinación en esta especie. La dosis utilizada por este autor es de 12.3 ± 2.8 mg/kg. En nuestro estudio utilizamos dosis inferiores de tiletamina y zolacepam (6.92 mg/kg) para evitar largos períodos de anestesia y recuperación, aunque en 4 de los 9 animales se necesitó una dosis adicional de ketamina o tiletamina-zolacepam para conseguir un plano anestésico adecuado para el manejo de los individuos. Debido a esta circunstancia dividimos a los gatos leopardo en dos grupos: grupo 1 o grupo que fue anestesiado con una sola dosis de T-Z sin necesitar ninguna dosis adicional de anestésico y grupo 2, grupo en el que se necesitó una dosis adicional de T-Z o ketamina para obtener una anestesia adecuada.

En nuestro estudio y durante el tiempo de inducción, en todos los individuos del estudio se observaron signos del efecto del fármaco similares a los descritos previamente en ocelotes (Shindle y Tewes, 2000) tales como lamerse la nariz y los labios, la pérdida de control de la cabeza y el cuello y parálisis de las extremidades.

Sin embargo, los 4 gatos leopardo del grupo 2 y tras 14 minutos de la inyección inicial de tiletamina y zolacepam, aún respondían a bajos niveles de estimulación ambiental como ruidos ligeros, tales como los producidos al mover la guillotina de la jaula trampa, mostrando que el nivel de la anestesia no era adecuado para el manejo seguro de los animales. Por ese motivo se decidió inyectar una dosis media adicional de 2.6 mg/kg de tiletamina-zolacepam o 3.05 mg/kg de ketamina por vía intramuscular para determinar cual de los dos fármacos era el más adecuado como dosis adicional en esta especie. En ningún caso, las dosis adicionales de ketamina que se emplearon causaron convulsiones en ninguno de los gatos leopardo, tal y como otros autores han observado en sus trabajos con felinos salvajes tras el uso de ketamina (Kreeger, 2002; Grassman *et al.*, 2004). Grassman *et al.* (2004) observó convulsiones en uno de sus gatos leopardo anestesiado con xilacina y ketamina, aunque las dosis de ketamina de 27.42 mg/kg utilizadas por este autor fueron notablemente mas altas que las nuestras.

En nuestro estudio, en todos aquellos gatos leopardo que recibieron dosis adicionales de ketamina o tiletamina-zolacepam se observó que el estado psíquico del individuo también pudo influir negativamente en la inducción anestésica. En nuestro caso, el estrés de la captura pudo influir en la inducción anestésica tal y como describe Grassman *et al.* (2004) en su estudio, en el que dos gatos leopardo presentaron unos tiempos de anestesia muy cortos a pesar de haber recibido una dosis ligeramente superior a la que estaba utilizando.

Las dosis utilizadas en nuestro estudio fueron suficiente para llevar a cabo los exámenes físicos, toma de muestras biológicas y colocación de radio-collares. La dosis de tiletamina-zolacepam propuesta por Grassman *et al.* (2004) de 12.31 mg/kg muestra tiempos de inducción significativamente más cortos, aunque con tiempos de anestesia más largos como podemos observar en la tabla 30.

	<i>Prionailurus bengalensis borneoensis</i> (T-Z)	<i>Prionailurus bengalensis borneoensis</i> (TZ+TZ)	<i>Prionailurus bengalensis borneoensis</i> (TZ+Ketamina)	<i>Prionailurus bengalensis</i> (Grassman <i>et al.</i> , 2004) (TZ)
Dosis (mg/kg)	6.92	6.92+2.6	6.92+3.05	12.31
Tiempo de inducción	7.9 ± 1.77	9.5 ± 2.12	7.5 ± 2.12	4.2 ± 2.8
Tiempo de anestesia	47.2 ± 25.1	89.5 ± 6.36	43.5 ± 2.12	67.0 ± 30.06

Tabla 30. Tiempos de inducción y anestesia durante la inmovilización química de gatos leopardo con una combinación de tiletamina y zolacepam, con o sin dosis adicionales de tiletamina-zolacepam o ketamina. Tiempos expresados en minutos (media ± desviación estándar).TZ: tiletamina-zolacepam; TZ+TZ: tiletamina-zolacepam y dosis adicional de tiletamina-zolacepam; TZ+Ketamina: tiletamina-zolacepam y dosis adicional de ketamina

De los casos en los que se administró una inyección de anestésico adicional, encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$) en los tiempos de anestesia y de liberación de los gatos leopardo inmovilizados con tiletamina-zolacepam seguido de una dosis adicional de la misma combinación en comparación con los que recibieron una dosis adicional de ketamina (tabla 31).

	Grupo 1	Grupo 2		
	T-Z ¹	T-Z + T-Z ²	T-Z + Ketamina ²	P
T-Z (mg/kg)	6.92	6.92	6.92	
Dosis adicional (T-Z o Ketamina) (mg/kg)		2.6	3.05	
Tiempo de inducción	7.9 ± 1.77	9.5 ± 2.12	7.5 ± 2.12	>0.05
Tiempo de anestesia	47.2 ± 25.1	89.5 ± 6.36	43.5 ± 2.1	0.001
Tiempo de liberación	236.2 ± 19.69	350.0 ± 70.7	245.0 ± 91.9	0.001
Tiempo de trabajo efectivo	36.0 ± 6.52	42.5 ± 3.54	40 ± 0.00	>0.05

Tabla 31. Tiempos de inducción, anestesia, liberación y trabajo efectivo en cada uno de los grupos de estudio. ¹Animales Grupo 1; ²Animales Grupo 2. Tiempo expresado en minutos. En los individuos del Grupo 2 los tiempos de inducción se registraron tras 14 minutos.

En vista de estos resultados encontramos una relación entre la dosis de tiletamina-zolacepam y los tiempos de anestesia y liberación, siendo significativamente más largo cuando la combinación de tiletamina-zolacepam es empleada en dosis más altas 12.31 mg/kg (Grassman et al., 2004) o en aquellos casos en los que se administra una dosis adicional de tiletamina-zolacepam de 2.6 mg/kg. Según nuestro estudio para los procedimientos en los que la manipulación de animales es mínima, proponemos una dosis única de 6.92 mg/kg.

Según nuestros resultados, cuando no se alcanza un plano anestésico adecuado o el tiempo de trabajo con el individuo es inferior a los 45 minutos, recomendamos una dosis adicional de 3 mg/kg de ketamina. Este protocolo no alarga significativamente el tiempo de la anestesia ni el tiempo de liberación del animal. Los tiempos de liberación tras el empleo de una única dosis de tiletamina-zolacepam fueron de 236.2 minutos mientras que los tiempos de liberación cuando se administro una dosis adicional de ketamina fueron de 245 minutos.

En este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los parámetros fisiológicos medidos durante el procedimiento anestésico de los gatos leopardo, aunque la saturación de oxígeno no pudo ser evaluada en esta especie.

Aunque la ketamina o la tiletamina-zolacepam han sido empleadas como dosis adicionales en otras especies de carnívoros salvajes (Kreeger *et al.*, 1990a; Kreeger, 2002; Shindle y Tewes, 2000), existe escasa información sobre el efecto fisiológico en los individuos tras la administración de estas dosis.

Solo Kreeger *et al.* (1990a) describe los efectos cardiovasculares en lobos anestesiados con tiletamina-zolacepam seguido de dosis adicionales de ketamina o de tiletamina-zolacepam en comparación con otras combinaciones anestésicas. En este estudio, las dosis adicionales de ketamina fueron de 2.5 mg/kg y las dosis adicionales de tiletamina-zolacepam de 5 mg/kg, para conseguir que estas dosis adicionales supusieran la mitad de la dosis inicial de 10 mg/kg de tiletamina-zolacepam empleada como dosis inicial (hay que tener en cuenta que en esa mezcla solo 5 mg/kg corresponden a tiletamina). En nuestro estudio, las dosis adicionales de tiletamina-zolacepam y ketamina fueron de 3 mg/kg, lo que corresponde a casi la mitad de la dosis inicial de tiletamina-zolacepam (6.92 mg/kg), aunque en el caso de la ketamina, nuestra dosis resulta ser más alta en comparación con la empleada por Kreeger *et al.* (1990a).

En su estudio Kreeger *et al.* (1990a), demuestra que las frecuencias cardíacas del grupo de lobos anestesiados con tiletamina-zolacepam fueron más elevadas en comparación con aquellas de lobos anestesiados con xilacina-butorfanol o xilacina-ketamina. Las frecuencias cardíacas registradas fueron similares a las observadas en lobos anestesiados con ketamina y promacina.

En nuestro caso, no podemos comparar nuestros parámetros fisiológicos con otros estudios de la misma especie porque no existen datos disponibles. En cualquier caso las frecuencias registradas en nuestro estudio resultaron ser similares a las observadas en el estudio de Kreeger *et al.* (1990).

En este estudio la combinación de tiletamina-zolacepam demostró ser un fármaco útil, eficaz y seguro para la inmovilización química de los gatos leopardo de Borneo salvajes. Los parámetros fisiológicos registrados durante la inmovilización química parecen adecuados para esta especie.

5.4. Hematología y bioquímica sérica en panteras nebulosas Sunda.

Los resultados obtenidos fueron comparados con los parámetros hematológicos y bioquímicos de la especie más cercana a la pantera nebulosa Sunda, la pantera nebulosa continental (Teare, 2002; Tablas 32,33), así como a otras especies de la familia *Felidae*.

Hematología					
Parámetro (unidad)	n	Media±DE <i>Neofelis diardi</i>	Rango <i>Neofelis diardi</i>	Media±DE <i>Neofelis nebulosa</i>	Rango <i>Neofelis nebulosa</i>
Eritrocitos (10 ⁶ /μl)	11	7.55±1.09	5.37-9.73	6.96±1.29	3.91-12.60
Hematocrito (%)	11	43±0.6	41.8-44.2	37±5	23-54
Hemoglobina (g/dl)	9	13.1±1.5	10.1-16.1	11.9±2.1	6.7-19.6
VCM(fl)	9	58.41±4.59	49.23-67.59	53.3±6.1	30.2-81.7
HCM (pg)	9	17.21±1.29	14.63-19.79	17.7±1.9	11.5-30.7
CHCM (g/dl)	9	29.58±1.71	26.16-33	32.6±3.5	19.1-52.8
Plaquetas (10 ⁶ /μl)	7	0.26±0.10	0.06-0.46	0.32±0.13	0.10-0.90
Leucocitos (10 ³ /μl)	11	13.42±3.82	5.78-21.06	12.90±4.08	5.51-30.40
Neutrófilos segmentados (10 ³ /μl)	8	7.65±4.01	0-15.67	9.82±3.56	0.05-22.50
Linfocitos (10 ³ /μl)	7	3.08±1.57	0-6.22	1.74±1.25	0.01-8.92
Monocitos (10 ³ /μl)	8	1.95±2.27	0-6.49	0.41±0.30	0-2.17
Eosinófilos (10 ³ /μl)	6	0.9±0.93	0-2.76	0.62±0.58	0-3.86
Basófilos (10 ³ /μl)	4	0.3±0.25	0-0.8	0.31±0.30	0-2.11
Reticulocitos (%)	9	18.35±3.88	10.59-26.11	N/A	N/A

Tabla 32. Media, desviación estándar y rango de 14 parámetros hematológicos en pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*) y en pantera nebulosa continental (*Neofelis nebulosa*) (Teare, 2002). DE: desviación estándar.

Bioquímica					
Parámetro (unidad)	n	Media (±DE)	Rango	Media (±DE)	Rango
		<i>Neofelis diardi</i>	<i>Neofelis diardi</i>	<i>Neofelis nebulosa</i>	<i>Neofelis nebulosa</i>
Calcio (mg/dl)	7	9.16±0.56	8.04-10.28	10±0.72	8.20-12.20
Fósforo (mg/dl)	10	6.25±0.93	4.39-8.11	5.79±1.30	3-10.5
Sodio (mEq/L)	10	150.3±4.00	142.3-158.3	152±4	140-165
Potasio (mEq/L)	10	4.53±0.36	3.81-5.25	4.2±0.4	2.9-6.4
Cloro (mEq/L)	10	116.7±4.1	108.5-124.9	119±4	108-132
Magnesio (mEq/L)	3	1.13±0.02	1.09-1.17	0.81±0.06	0.69-1.02
Hierro (umol/L)	1	43.6	0-43.6	N/A	N/A
Urea (mg/dl)	11	21.76±8.15	5.46-38.06	25.99±8.99	8.99-68.01
Creatinina (mg/dl)	11	1.86±0.35	1.19-2.56	1.69±0.8	0-8.2
Ácido Úrico (mg/dl)	8	0.04±0.1	0-0.24	0.18±0.18	0-0.18
Bilirrubina total (mg/dl)	10	0.03±0.03	0 -0.06	0.3±0.33	0-14
Glucosa (mg/ml)	7	123.96±46.31	31.34-216.58	120.9±35.85	38.91-309
Colesterol (mg/dl)	9	87.39±27.06	33.27-141.51	70.45±17.11	35.31- 133.87
Triglicéridos (mg/dl)	2	6.49±1.62	3.25-9.73	8.64±5.04	2.52-31.89
CK (UI/l)	7	347.85±172.54	2.77-692.93	395±290	45-1743
LDH (UI/l)	7	517.28±350.69	0-1218.66	542±887	33-6829
FA (UI/l)	11	23.81±11.23	1.35-46.27	86±127	2-885
ALT (UI/l)	11	64.09±32.46	0-129.01	85±67	9-436
AST (UI/l)	11	75.36±105.04	0-285.44	36±22	7-159
GGT (UI/l)	10	5.4±4.63	0-14.66	5±4	0-19
Amilasa (UI/l)	2	934.6±79.3	776-1093.2	161±81.4	48.66- 462.5
Lipasa (UI/l)	2	8.45±0.15	8.15-8.75	6.39±4.17	0-17.79
Proteínas Totales (g/dl)	11	8.03±0.49	7.4-9.3	7.1±0.7	5.2-9.8
Albúmina (g/dl)	11	3.2±0.91	10-42	3.5±0.6	2.1-5.4
Globulina (g/dl)	11	4.82±1.02	37-70	3.5±0.5	2.2-5.4
Cortisol (nmol/l)	7	780.14±263.63	252.88-1307.4	739±0.00	739

Tabla 33. Media, desviación estándar y rango de 24 parámetros de bioquímica sérica y cortisol en pantera nebulosa Sunda (*Neofelis diardi*) y en pantera nebulosa continental (*Neofelis nebulosa*) (Teare, 2002). DE: desviación estándar.

Entre los ejemplares estudiados en este trabajo, diferenciamos dos grupos acorde con el sexo y el origen (salvajes y cautivos). Se encontraron ciertas diferencias significativas entre sexos y entre los diferentes orígenes de las panteras (tabla 34). Los machos de pantera nebulosa Sunda tuvieron la población de basófilos más elevada que en hembras (media \pm desviación estándar: $0.55 \pm 0.07 \times 10^3/\mu\text{l}$ frente $0.05 \pm 0.07 \times 10^3/\mu\text{l}$, $P=0.01$); así como un valor más elevado de creatinina quinasa (CK), (media \pm desviación estándar: 420.75 ± 127.8 UI/l frente a 115.50 ± 13.44 UI/l; $P=0.03$). En cuanto al origen de los individuos, las panteras salvajes tuvieron un recuento total de leucocitos más elevado que las panteras cautivas (media \pm desviación estándar: $17.9 \pm 3.04 \times 10^3/\mu\text{l}$ frente a $12.06 \pm 3.0 \times 10^3/\mu\text{l}$; $P=0.02$), así como una CK más elevada (media \pm desviación estándar: 423.5 ± 130.45 UI/l frente a 115.50 ± 13.44 UI/l; $P=0.03$). Las panteras mantenidas en cautividad presentaron unos valores más elevados de sodio (media \pm desviación estándar: 151.67 ± 1.37 mEq/l frente a 145.75 ± 5.35 mEq/l; $P=0.04$) y de calcio (media \pm desviación estándar: 9.56 ± 0.28 mg/dl frente a 8.4 ± 0.56 mg/dl; $P=0.02$).

Hematología

Todos los parámetros hematológicos se encontraron dentro del rango de referencia de las panteras nebulosas continentales, aunque se observaron leves diferencias en los recuentos de eritrocitos y en el recuento total de leucocitos. Estas diferencias pueden ser debidas al estrés durante el manejo de los individuos. Durante episodios de estrés agudo en gatos domésticos, los recuentos de eritrocitos y leucocitos pueden observarse elevados. También ha sido descrita leucocitosis en otros felinos salvajes durante procedimientos de captura y manejo (Fuller *et al.*, 1985; Kocan *et al.*, 1985; Weaver y Johnson, 1995; Marco *et al.*, 2000). Sin embargo, los estudios de Heidt *et al.*, (1988) en lince rojo, demostraron que los recuentos leucocitarios pueden variar ampliamente dentro de una misma especie al comparar diferentes estudios. El hematocrito encontrado en la pantera nebulosa Sunda (43%) es mas elevado que en la pantera nebulosa continental (37%). Si bien nuestros resultados se encuentran dentro del rango de referencia para la pantera nebulosa continental dicha diferencia puede ser debida al episodio de estrés del manejo de nuestros individuos, ya que por efecto de las catecolaminas sobre el bazo se puede producir la contracción esplénica responsable de la liberación al torrente sanguíneo de sangre almacenada en este órgano incrementando el hematocrito (Brockus, 2011).

En la serie blanca encontramos leves diferencias en los recuentos de linfocitos y monocitos entre ambas especies. El elevado número de linfocitos ($3.08 \times 10^3/\mu\text{l}$) observado en nuestras panteras puede ser consecuencia del efecto de la epinefrina sobre el patrón normal de la circulación de los linfocitos (Webb y Latimer, 2011).

De cualquier manera ambos rangos presentan similares valores en las dos especies. El mayor número de monocitos ($1.95 \times 10^3/\mu\text{l}$) registrado en nuestra especie puede ser consecuencia del efecto en el manejo de los animales. Debido a la respuesta de estrés, el eje hipotálamos adreno-cortical va a provocar la liberación de glucocorticoesteroides produciendo la monocitosis resultante de la movilización de los monocitos a circulación general (Webb y Latimer, 2011).

Los machos de pantera nebulosa Sunda presentaron un número de basófilos estadísticamente mayor que en las hembras (machos: $0.55 \times 10^3/\mu\text{l}$; hembras: $0.5 \times 10^3/\mu\text{l}$, $P=0.01$). Aun siendo mayor que en las hembras, este recuento se sitúa dentro de los parámetros de normalidad de las panteras nebulosas continentales (Teare, 2002). Aunque la basofilia se ha descrito en gato doméstico, puede llegar a estar sobre-valorada en determinadas ocasiones porque los gránulos de los basófilos maduros no se tiñen metacromáticamente, y resulta muy raro además encontrar una basofilia no acompañada de eosinofilia (Webb y Latimer, 2011).

Otra de las diferencias estadísticamente significativas en la hematología de las panteras nebulosas Sunda estriba en el recuento total de leucocitos entre los diferentes orígenes. Las panteras que fueron capturadas en libertad presentaron concentraciones más elevadas de leucocitos, presumiblemente debido al estrés fisiológico de la captura, como descrito en otras especies de felinos de tamaño medio como el lince de Canadá en los que el valor medio registrado fue de $9.1 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Weaver y Johnson, 1995) o el lince rojo que presentó un valor medio de $15.81 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Fuller *et al.*, 1985).

Bioquímica sérica

Todos los valores bioquímicos descritos en este estudio se sitúan dentro del rango de referencia para la pantera nebulosa continental en cautividad (Teare, 2002), así como en gato doméstico (Bush, 1991; Jain, 1993; Kaneko *et al.*, 1997; O'Brien *et al.*, 1998) u otras especies de felinos salvajes (Hawkey y Hart, 1986; Marco *et al.*, 2000; García *et al.*, 2010).

Algunas de las diferencias encontradas en la bioquímica sérica de la pantera nebulosa Sunda pueden ser debidas a variaciones individuales, debidas al tamaño de muestra o a la metodología de captura. De las enzimas musculares estudiadas en esta especie, la aspartato aminotransferasa (AST) es la que se encuentra más elevada, alcanzando el límite superior los 400 UI/l y un valor medio de 75.36 UI/l, mientras que las panteras nebulosas continentales muestran un rango superior de 159 UI/l y un valor medio de 36 UI/l. Esto es probablemente debido al daño muscular durante la captura y el manejo de individuos salvajes, como ha sido previamente descrito en otras especies de felinos silvestres donde se han observado elevaciones en esta enzima (lince ibérico: 79.6- 214.1 UI/l; Beltrán *et al.*, 1991; García *et al.*, 2010) u otros carnívoros salvajes como oso griezly donde esta enzima se observó mas elevada en aquellos individuos capturados mediante lazos (288 UI/l; Cattet *et al.*, 2008).

En panteras nebulosas Sunda y continentales, el aumento de esta enzima muscular viene acompañado, por un aumento en la creatinina quinasa (347 UI/l en panteras nebulosas Sunda y 395 UI/l en panteras nebulosas continentales). Esta enzima se puede encontrar elevada debido también al daño muscular por captura. En ambas especies el valor de la creatinina quinasa es mas elevado que el límite superior del rango de referencia normal descrito por Bush (1991) para el gato doméstico (7.2-28.2 UI/l) ya que esta especie sufre de menor estrés al ser manejado para toma de muestras.

Acorde con los grupos sexo y origen de nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas en esta enzima. En el caso de los machos, la diferencia de masa muscular entre machos y hembras podría explicar esta diferencia, ya que los machos son físicamente más fuertes con pesos que pueden llegar a ser el doble que el de las hembras. Además, al igual que ocurre en machos de otras especies de felinos, el intenso ejercicio físico como consecuencia del control del territorio al que los machos están sometidos, puede revelar el origen de esta diferencia entre machos y hembras. De manera similar a lo que es presentado en este estudio, García *et al.* (2010) encontró diferencias estadísticamente significativas en el valor de CK entre machos y hembras de lince ibérico, en el que los machos presentaron un valor medio de 940.3 UI/l y en las hembras se obtuvo una media de 472.7 UI/l. Entre panteras salvajes y cautivas, la diferencia en los valores de CK puede ser explicada debido al estrés muscular o al ejercicio intenso que las panteras capturadas en jaula trampa pueden realizar al intentar escapar, teniendo en cuenta que el tiempo que los individuos podían permanecer en las trampas podía llegar a superar incluso las 12 horas.

La amilasa pancreática obtenida en este estudio (934.6 UI/l) fue más elevada que el límite superior del rango de referencia para la pantera nebulosa continental (161 UI/l: Teare, 2002). Sin embargo, este valor se encuentra dentro de los rangos de referencia para el gato doméstico (40-1800 UI/l: Bush, 1991; Jain, 1993; Kaneko *et al.*, 1997; O'Brien *et al.*, 1998). En cánidos, la hiperamilasemia se observa con frecuencia en pancreatitis aunque en felinos es raro (Tarpley y Bounous, 2011). En estudios de la bioquímica sanguínea de lince ibéricos también se observaron valores medios elevados para esta enzima (875.2 UI/l: García *et al.*, 2010), sin significancia clínica en los individuos.

Los valores medios de glucosa de 123.96 mg/dl de nuestro estudio, aunque similares en a los mostrados en panteras nebulosas continentales, son más elevados que en el gato doméstico (rango de 60-100 mg/dl: Bush, 1991). Esto es debido a que el gato doméstico sufre un estrés menor al ser manipulado y/o inmovilizado. Los valores de glucosa obtenidos en nuestro trabajo son similares a los descritos en otros estudios con felinos salvajes los cuales son estresados más fácilmente durante el manejo, como es el caso del gato montés, donde el valor medio de glucosa obtenido fue de 167 mg/dl (Marco *et al.*, 2000), el lince ibérico, con un valor medio de 135.6 mg/dl (Beltran *et al.*, 1991) o la pantera de Florida que mostró un valor medio de 154.4 mg/dl (Dunbar *et al.*, 1997).

En nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los valores de sodio y calcio entre las poblaciones salvajes y cautivas. Un aumento en la concentración de sodio se ha observado en felinos con una dieta alta en proteínas y con una excesiva pérdida de fluidos por diuresis inducida por altas concentraciones de urea (Bush, 1991). En nuestro caso, no existe una correlación entre elevados valores de urea y sodio en la población cautiva, y estos valores se encuentran dentro de los rangos de referencia para la pantera nebulosa continental en cautividad (Teare, 2002) y para el gato doméstico (Bush, 1991), haciendo suponer que no representa alteración fisiológica alguna. Las diferencias encontradas en los valores de calcio entre ambos orígenes puede ser debida a las diferencias nutricionales entre ambas poblaciones, donde valores elevados de calcio se han observado en otros felinos salvajes mantenidos en cautividad (García *et al.*, 2010).

En cuanto a los valores de cortisol plasmático, no se encuentran diferencias significativas entre los grupos salvaje y cautivo. En ambos grupos el valor de cortisol en plasma es relativamente alto, y los valores de los animales capturados en libertad son más elevados, probablemente debido a la respuesta de estrés a corto plazo debido al proceso de captura en jaula-trampa, inyección con dardo y la manipulación, como ha sido descrito con otros carnívoros salvajes (Fernández-Morán, 2003). Nuestros resultados son similares a los descritos en estudios de la fisiología reproductiva de panteras nebulosas macho, donde se observaron niveles de cortisol plasmático más elevados en comparación con otros felinos como el gato doméstico y el guepardo (Wildt *et al.*, 1986). Para una comparación y análisis más detallados sería necesario incluir valores de referencia con un mayor número de individuos y utilizando técnicas no invasivas.

Este estudio representa el primer intento para crear valores de referencia para hematología y bioquímica sérica para pantera nebulosa Sunda. Aunque estudios más amplios serían necesarios, los resultados expresados en aquí pueden ayudar a comprender el estado fisiológico de esta especie en cautividad y en la naturaleza, siendo una herramienta útil en programas de conservación tanto ex-situ como in-situ.

Categoría	Parámetro sanguíneo	Media (\pm desviación estándar)		P
Sexo		Machos	Hembras	
	Basófilos	0.55 \pm 0.07	0.05 \pm 0.07	*0.01
	CK	420.75 \pm 127.8	115.50 \pm 13.44	*0.03
Origen		Salvaje	Cautividad	
	Leucocitos	17.9 \pm 3.04	12.06 \pm 3.0	*0.02
	Sodio	145.75 \pm 5.35	151.67 \pm 1.37	*0.04
	Calcio	8.4 \pm 0.56	9.56 \pm 0.28	*0.02
	CK	423.5 \pm 130.45	115.50 \pm 13.44	*0.03

Tabla 34. Parámetros hematológicos y bioquímicos que presentaron diferencias significativas entre sexo y origen. *Valores de $P \leq 0.05$ son estadísticamente significativos.

5.5. Hematología y bioquímica sérica en gatos leopardo de Borneo

No hay información disponible en la literatura para los intervalos de referencia de la hematología y bioquímica sanguínea de gatos leopardo salvajes. Por otra parte, la captura y manejo de especies silvestres puede afectar la hematología y la bioquímica sérica (Cattet *et al.*, 2008). Por esa razón, y para llevar a cabo nuestra comparación, utilizamos datos de una población de gatos leopardo mantenida en cautividad (Teare, 2002; Salakij *et al.*, 2010; tabla 35).

En este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los valores de colesterol total, triglicéridos, sodio, potasio, cloro, fósforo, calcio, bilirrubina total, urea y creatinina. En el grupo de gatos leopardo cautivos no encontramos datos para los valores de colesterol-HDL, colesterol-LDL o la proporción de colesterol total/HDL- colesterol, debido a que estos parámetros tienen una menor significación clínica en veterinaria que en medicina humana y no son medidos de manera rutinaria en cautividad.

Si encontramos valores significativamente más altos en los siguientes parámetros (media \pm desviación estándar): aspartato aminotransferasa (269 \pm 141.86); alanina aminotransferasa (121 \pm 43.43) y fosfatasa alcalina (99.80 \pm 211.98).

Parámetro (unidades)	Salvajes			Cautivos	
	n	Media±DE	Rango	Media±DE	Rango
Colesterol total (mg/dl)	6	159.46±46.33	66.8-252.12	74.59±24.68	31.17-132.43
Triglicéridos (mg/dl)	6	19.31±6.56	6.19-32.43	11.35±3.78	8.83-15.86
Colesterol- HDL (mg/dl)	6	77.99±33.98	10.03-145.95	N/D	N/D
Cholesterol-LDL (mg/dl)	6	72.20±33.2	5.8-138.6	N/D	N/D
Colesterol Total/ HDL Ratio	6	2.28±1.10	0.08-4.48	N/D	N/D
Bilirrubina total (mg/dl)	6	0.03±0.01	0.01-0.05	0.05±0.02	0.02-0.11
AST (UI/l)	6	269±141.86	0-552.72	46±22	16-106
ALT (UI/l)	6	121±43.43	34.14-207.86	51±26	20-95
FA (UI/l)	6	99.80±211.98	0-523.76	38±24	9-77
GGT (UI/l)	6	4.60±1.34	1.92-7.28	2±2	0-3
Na (mEq/l)	6	149±4.86	139.28-158.72	153±3	148-159
K (mEq/l)	6	4.28±0.44	3.4-5.16	4.2±0.6	3.4-5.3
Cl (mEq/l)	6	117.67±3.50	110.67-124.67	118±4	112-126
Urea (mg/dl)	6	36.41±12.49	11.43-61.39	34.01±10.98	21.99-58.01
Creatinina (mg/dl)	6	1.05±0.12	0.81-1.29	1.4±0.3	0.9-1.79
Ca (mg/dl)	6	8.20±1.72	4.76-11.64	10±1.12	8.20-11.72
P (mg/dl)	6	5.63±1.02	3.59-7.67	5.02±2.11	1.49-8.79
Hematocrito (%)	4	31±0.06	30.88-31.12	46	30-55
Leucocitos (10 ³ /μl)	4	12.07±5.35	1.37-22.77	9.0	6.9-15.2

Tabla 35. Valores de bioquímica sérica y hematología descritos para gatos leopardo de Borneo salvajes capturados mediante jaula trampa, en comparación con los valores de referencia para la especie en cautividad presentes en la literatura (Teare 2002; Salakij *et al.*, 2010). DE: Desviación estándar. N/D: No disponible.

Hematología

Aunque el valor medio del hematocrito (31%) se encuentra dentro del rango de referencia proporcionado por Salakij *et al.* (2010) de 30-55% consideramos este valor normal-bajo. Esto podría explicarse debido a la baja nutrición en estos individuos, aunque en la exploración física estos gatos leopardo no mostraron una condición corporal baja. El estado nutricional es un factor utilizado para explicar hematocritos de rango bajo en otras especies de felinos salvajes como la pantera de Florida, que presentó un valor medio de hematocrito del 36.37% (Dunbar *et al.*, 1997). Por otra parte no se encontraron otros signos clínicos asociados a este hallazgo en estos gatos leopardo.

Los glóbulos blancos en los gatos leopardos se encuentran dentro de los valores de referencia para la especie en cautividad (Salakij *et al.*, 2010), aunque dos machos tuvieron valores significativamente más altos ($15.9 \times 10^3/\mu\text{l}$ y $15.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ respectivamente). Para una mejor evaluación de esta condición o para confirmar un leucograma de estrés como se ha observado en condiciones similares con otros felinos salvajes, deberían haberse realizado el recuento diferencial de leucocitos en todos los individuos (Fuller *et al.*, 1985; Dunbar *et al.*, 1997; Marco *et al.*, 2000).

Bioquímica sérica

En cuanto a la bioquímica sérica, el hallazgo más notable encontrado en este estudio fue el valor elevado de la AST (media de 269 UI/l). En 5 de 6 individuos encontramos valores más altos (rango: 143-461 UI/l) que el límite superior del rango de referencia para la población cautiva (106 UI/l: Teare, 2002). En cuatro individuos fue observado un aumento extremadamente elevado (> 100 veces), lo que puede sugerir una lesión o daño muscular debido a la captura y/o manejo.

También encontramos un valor medio más elevado para ALT (121 UI/l). En cuatro individuos, los valores de ALT fueron más altos que el valor máximo dentro del rango de referencia para la población cautiva (95 UI/l: Teare, 2002). Aunque algunas de esas diferencias son difíciles de explicar y podría estar relacionado con la variación individual, valores mas elevados para AST y ALT se ha encontrado en otras especies de felinos salvajes como el lince rojo (AST: 66 UI/l; ALT: 27.1 UI/l, Fuller *et al.*, 1895) el lince ibérico (AST: 214 UI/l; ALT:100.7 UI/l, Beltrán *et al.*, 1991) en comparación con otros felinos mantenidos en cautividad como el lince de Canadá (AST:26.6 UI/l; ALT: 35.7 UI/l, Weaver y Johnson, 1995) derivados de una lesión muscular al ser capturados o manipulados (Marco *et al.*, 2000).

También se observó un valor elevado (479 UI/l) para la FA en un gato leopardo macho, que presentó a la par un aumento significativo en la AST (316 UI/l). Una actividad elevada en la FA se ha asociado con la actividad osteoblástica (por continuo crecimiento) en linces de Canadá jóvenes (rango 14-57 UI/l: Weaver y Johnson, 1995) y no se ha llegado a relacionar con el esfuerzo físico. Kreeger *et al.* (1990b) y White *et al.* (1991) encontraron niveles más altos de FA (70.9 UI/l; 42.4 UI/l, respectivamente) en zorros rojos atrapados debido al cortisol inducido por estrés. En nuestro caso, esta condición es difícil de explicar, ya que otras causas de aumento de los niveles de FA fueron descartadas durante el examen médico del individuo, y en felinos no se ha comprobado que existan elevaciones en la FA inducidas por cortisol. Otras pruebas diagnósticas deberían haberse realizado para identificar el origen del aumento de la actividad sérica de FA en este gato leopardo.

Los valores de la GGT obtenidos en nuestro estudio no difirieron significativamente entre los orígenes (salvajes/cautivos), aunque los valores más altos fueron observados en los gatos leopardo salvajes (4.6 UI/l). Como ocurre con la FA, los glucocorticoides de la respuesta de estrés pueden aumentar los niveles de GGT (White *et al.*, 1991).

Los valores de CK no pudieron ser evaluados en este estudio. Esta enzima es un marcador fiable para el diagnóstico de lesiones musculares en seres humanos y animales (Latimer *et al.*, 2003; Krefetz y McMillin, 2005; Cattet *et al.*, 2008). La determinación de la CK en las especies domésticas ha puesto de manifiesto que se encuentra elevada en la sangre por períodos de tiempo más cortos que la AST (Latimer *et al.*, 2003; Cattet *et al.*, 2008). Al igual que en otros estudios en carnívoros salvajes, asumimos que los niveles de AST reflejarían una lesión muscular más grave ya que en la mayoría de los casos los gatos leopardo podrían quedar atrapados durante tiempos iguales o inferiores a las 14 horas (Latimer *et al.*, 2003). Para futuros estudios en esta especie con respecto al análisis del daño muscular producido durante los procedimientos de captura, los valores de CK deberían ser incluidos. Con el objetivo de evitar un mayor estrés, daño muscular o lesiones, mientras que los gatos leopardo intentan escapar de las trampas, algunos autores recomiendan la colocación de dispositivos electrónicos en las trampas que faciliten saber cuando los animales han sido capturados (Larkin *et al.*, 2003). Esos dispositivos pueden reducir drásticamente el tiempo que el animal es capturado. La captura de gatos leopardo mediante jaula trampa puede implicar algún grado de daño muscular si los individuos capturados están confinados en la trampa durante varias horas. Aunque es difícil evitar una respuesta fisiológica negativa durante las capturas, es recomendable añadir dispositivos electrónicos en las trampas para avisar al investigador de la captura y, en consecuencia, disminuir el tiempo que el gato leopardo está restringido en la jaula trampa, minimizando lesiones durante la captura de esta especie.

5.6. Dinámica de la masa corporal en cachorros de pantera nebulosa.

El peso medio al nacimiento de cachorros de pantera nebulosa de nuestro estudio fue similar a los descritos previamente en la literatura, aunque esos estudios no mencionan las diferencias de peso entre machos y hembras (Fletcher, 2000). En nuestro estudio, el peso al nacimiento mostró diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras.

Los machos adultos de panteras nebulosas son significativamente más corpulentos que las hembras. En la actual población cautiva de Tailandia (15 machos y 17 hembras), las hembras son un 36.06% más ligeras que los machos (peso medio de los machos = 20.41 ± 1.78 kg; peso medio de las hembras = 13.04 ± 1.91 kg, $P < 0.01$). Law y Tautner (1998) también observaron esta diferencia significativa en el peso de machos y hembras de panteras nebulosas en edad adulta, aunque su tamaño de muestra fue más bajo (9 machos y 4 hembras). Aunque otros machos de felinos como los guepardos o lincees son considerablemente más corpulentos que las hembras, el peso al nacer en estas especies no muestra diferencias estadísticamente significativas, probablemente debido al tamaño de la muestra o debido a un desarrollo sexual más tardío (Wack *et al.*, 1991; Naidenko, 2006). La diferencia de pesos/tamaños entre sexos podría ocurrir en una etapa temprana en la pantera nebulosa, lo que podría explicar esta disparidad o variación de pesos entre machos y hembras.

En este estudio observamos síntomas gastrointestinales en 18 cachorros, aunque la incidencia de estos problemas es menor utilizando la combinación de KMR y Zoologic Milk Matrix 33/40 que con el uso de otras fórmulas utilizadas con anterioridad a este estudio. KMR es una buena opción debido a la presencia de taurina, un aminoácido esencial para los felinos, y por su alto contenido en proteína en comparación con otras fórmulas. Los felinos salvajes obtienen energía de la proteína y la grasa (Grant, 2005). Sin embargo KMR es alta en hidratos de carbono lo que puede originar problemas digestivos en felinos. KMR tiene grasa de mantequilla (ácidos grasos de cadena larga), que puede ser más difíciles de digerir en felinos que los aceites vegetales (ácidos grasos de cadena media, que en general son más digeribles) (Grant, 2005). La adición de Zoologic Milk Matrix 33/40 (que es baja en carbohidratos) pretende reducir la cantidad total de hidratos de carbono en la fórmula utilizada.

Todos los cambios en la dieta se realizaron gradualmente, durante el transcurso de 3-5 días para asegurar que no hubiera problemas de digestibilidad en los cachorros. Todos los cachorros que sufrieron diarreas durante alguna de las etapas de la cría artificial se recuperaron bien tras la puesta en marcha de una o varias de las siguientes pautas: disminución de la concentración de la fórmula, administración de suero oral y/o administración de fluidoterapia subcutánea/endovenosa y/o administración de antibióticos. Como consecuencia, los cachorros siguieron aumentando de peso cuando el cuadro digestivo desapareció.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la masa corporal entre este grupo y el grupo sano al final del destete, probablemente debido a que los cachorros se recuperaron del proceso digestivo gracias al tratamiento y siguieron ganando peso con normalidad.

Las diarreas en cachorros de carnívoros salvajes pueden ser debidas a cambios en la dieta durante la cría artificial. En este estudio la incidencia de diarreas en los cachorros no pudo relacionarse con cualquiera de los cambios de alimentación de las etapas de la cría y probablemente fue debido a las variaciones individuales o debido también a condiciones ambientales no controlables (como por ejemplo la calidad del agua) en las camadas tailandesas. 77.7% (14/18) de los cachorros que sufrieron de diarrea pertenecieron a las camadas tailandesas.

Todos nuestros cachorros fueron separados de la madre a las 24 horas de nacer (o incluso menos), lo que significa que todos estos cachorros no pudieron obtener los anticuerpos maternos del calostro. Esta situación les hace más propensos a infecciones en comparación con aquellos cachorros recién nacidos que son mantenidos con la madre al menos durante las primeras 48 horas para absorber las inmunoglobulinas maternas. Este factor también podría explicar la aparición de diarrea en la población.

Nuestro protocolo recomienda proporcionar el 28% del peso corporal en alimento por día, aunque otros autores recomiendan proporcionar entre 20-25% del peso corporal en alimento por día, siendo el porcentaje más alto para felinos más pequeños (Hedberg, 2002). Tampoco se pudo comprobar que la diarrea fuera causada por el alto porcentaje de alimentación por día, ya que solo afectó al 36.7% (18/49) de nuestra población.

En estudios previos, se han descrito tasas de crecimiento diario para grandes felinos (leones, tigres) de 100 gramos/día y de 50 gramos/día para especies más pequeñas (Hedberg, 2002). En guepardos, Wack *et al.* (1991) describieron ganancias diarias de peso de 40-50 gramos/día. En cuanto a los lince boreales, Naidenko (2006) describió ganancias diarias de 21.5 a 46.5 gramos por día. En nuestro caso, las panteras nebulosas son consideradas como felinos de tamaño medio por lo que las tasas de crecimiento diario son más cercanas a las descritas por Naidenko (2006).

En nuestro estudio, las ganancias diarias de peso aumentaron en la última etapa de la lactancia. Naidenko (2006) describió también mayores ganancias de peso diario en el último período de la lactancia (61-80 días), aunque su estudio está basado en cachorros de lince criados por la madre. Nuestros cachorros de pantera nebulosa no experimentaron una discontinuidad en crecimiento similar a la descrita en cachorros de lince y gatos domésticos, posiblemente debido a las condiciones de alimentación. Mientras que los cachorros criados por sus madres pueden experimentar una escasez de la leche de la madre obligándoles a buscar otra fuente de alimento (y reduciendo así las tasas de crecimiento diario), durante la cría artificial no existe tal período, y la transición a los alimentos sólidos es menos traumática para los cachorros.

En nuestro estudio no existió una relación negativa entre el tamaño de la camada y la ganancia diaria de peso de los cachorros de pantera nebulosa, a diferencia de lo que ocurre en cachorros criados por sus madres. Todos nuestros cachorros tuvieron las mismas oportunidades de alimentarse y no tuvieron que competir por el alimento con sus hermanos de camada durante todo el período de lactancia. El efecto del tamaño de la camada en la tasa de crecimiento diario se ha estudiado previamente en lince y gatos domésticos dentro de la familia *Felidae*. En los primeros, el tamaño de camada influyó en la tasa de crecimiento diario cuando los cachorros de lince cambiaron de la leche a alimentos sólidos, pero no cuando los cachorros de lince solo se alimentaban de leche materna (Naidenko, 2006). En los gatos domésticos, el efecto del tamaño de la camada no mostró diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento (Loveridge, 1987), aunque Deag *et al.* (1987) y Mendl (1988) mostraron que en las camadas más grandes, la tasa de crecimiento diario es menor que en las camadas más pequeñas. En este estudio, no hubo ningún efecto del tamaño de la camada en la tasa de crecimiento diario de machos y hembras en las tres etapas de la cría artificial ($P>0.05$).

Por último, los pesos de machos y hembras al final de la lactancia artificial mostraron diferencias, aunque no estadísticamente significativas (hembras: 2726.32 ± 543.24 gramos; machos: 3183.16 ± 754.76 gramos, $P>0.05$). Esto se puede explicar posiblemente debido a las condiciones artificiales del manejo de los cachorros o al tamaño de muestra.

Nuestro estudio ofrece una aproximación en el patrón de crecimiento de cachorros de pantera nebulosa con el fin de identificar posibles problemas médicos relacionados con el desarrollo de los cachorros. Las ganancias de peso diarias para los machos y hembras presentadas en este estudio durante el período de cría artificial parecen adecuadas para esta especie; por lo tanto, esta información puede servir como herramienta de gran utilidad en el manejo de las especies del género *Neofelis* en programas de cría en cautividad.

6. CONCLUSIONES

Primera

La anestesia reversible de panteras nebulosas Sunda (*Neofelis diardi*) con una combinación de medetomidina (0.04 mg/kg) y ketamina (3 mg/kg) y atipamezol (0.2 mg/kg) resulta ser segura y eficaz y no presenta efectos cardiovasculares a las dosis descritas en los individuos. Se recomienda su utilización tanto en panteras salvajes como cautivas.

Segunda

La anestesia de panteras nebulosas Sunda (*Neofelis diardi*) con una combinación de tiletamina y zolacepam (Zoletil®) a dosis de 8 mg/kg, aunque efectiva y segura, presenta unos períodos de recuperación muy prolongados, haciendo de esta combinación no recomendable en condiciones de campo.

Tercera

La combinación anestésica de tiletamina y zolacepam (Zoletil®) a dosis de 6.92 mg/kg resulta ser efectiva y segura para la inmovilización química de gatos leopardo de Borneo (*Prionailurus bengalensis borneoensis*) en condiciones de campo. Si se requieren dosis adicionales de anestésico, la elección propuesta por este estudio es de ketamina a 3 mg/kg.

Cuarta

La captura de gatos leopardo de Borneo (*Prionailurus bengalensis borneoensis*) salvajes mediante jaulas trampa conlleva un aumento estadísticamente significativo de las enzimas musculares, principalmente aspartato aminotransferasa y alanino aminotransferasa.

Quinta

En los valores de hematología y bioquímica de panteras nebulosas Sunda (*Neofelis diardi*) los machos presentan valores estadísticamente más elevados de basófilos y creatinina quinasa que las hembras. Las panteras nebulosas Sunda salvajes presentan recuentos leucocitarios y valores de creatinina quinasa estadísticamente más elevados que las panteras mantenidas en cautividad, mientras que estas últimas presentan valores más elevados de sodio y calcio.

Sexta

Para la cría artificial de panteras nebulosas (*Neofelis nebulosa*) la mezcla de fórmulas lácteas Kitten Milk Replacer (KMR) y Zoologic Milk Matrix 33/40 en proporciones 3:1 y ofrecida en cantidades no superiores al 28% del peso corporal/día, resulta ser adecuada para el desarrollo de los cachorros de pantera. La tasa de crecimiento corporal en panteras nebulosas desde el nacimiento hasta el destete (90 días de edad) ha quedado establecida entre 26 y 36 gramos al día. Los machos presentan una ganancia de peso de 35 gramos/día y las hembras de 30 gramos/día.

Séptima

Los pesos de los cachorros de pantera nebulosa (*Neofelis nebulosa*) al nacimiento muestran diferencias estadísticamente significativas entre sexos hasta el final de la lactancia artificial.

7. RESUMEN

El hábitat de los felinos del Sudeste Asiático está sufriendo grandes cambios debidos a la acción del hombre. La pérdida de hábitat supone la principal amenaza para las poblaciones salvajes de estas especies y es necesaria la creación de programas de conservación que aseguren su supervivencia. Los aspectos veterinarios en estos programas son de gran utilidad y relevancia para el manejo adecuado y seguro de estas especies tanto en vida libre como en cautividad.

Los objetivos del trabajo de campo (in-situ) realizado en esta tesis fueron: evaluar la eficacia y las características anestésicas y los efectos fisiológicos de dos combinaciones farmacológicas (tiletamina-zolacepam; medetomidina-ketamina) empleadas en dos felinos salvajes de Borneo (pantera nebulosa Sunda – *Neofelis diardi*- y gato leopardo – *Prionailurus bengalensis borneoensis*-) así como evaluar la hematología y bioquímica sérica en estas especies tras la captura mediante jaula-trampa.

Del trabajo llevado a cabo en cautividad (ex-situ), se evaluó la eficacia, características anestésicas y efectos fisiológicos de dos combinaciones farmacológicas en panteras nebulosas Sunda (tiletamina-zolacepam; medetomidina-ketamina) así como la hematología y bioquímica sérica. Durante el período de trabajo no se pudieron localizar cachorros de pantera nebulosa Sunda en cautividad para llevar a cabo el estudio de la dinámica corporal de cachorros de esta especie. Por ese motivo se analizó la dinámica de la masa corporal en cachorros criados a biberón de la especie más cercana filogenéticamente, la panteras nebulosa continental (*Neofelis nebulosa*), para determinar curvas de crecimiento en machos y hembras, problemas médicos relacionados con la cría a biberón y eficacia del sustituto lácteo utilizado en el estudio.

Las panteras nebulosas Sunda de vida libre fueron capturadas mediante jaulas trampa y fueron anestesiadas con dos combinaciones anestésicas (tiletamina-zolacepam; medetomidina-ketamina) de manera aleatoria (dependiendo de la disponibilidad de los fármacos). Las panteras nebulosas Sunda mantenidas en cautividad de este estudio procedían de vida libre y fueron anestesiadas siguiendo los mismos protocolos empleados con las panteras salvajes.

Los gatos leopardo de vida libre fueron capturados mediante jaulas trampa de diferentes dimensiones y fueron anestesiados con tiletamina-zolacepam, suplementado o no con ketamina o tiletamina-zolacepam.

En las panteras nebulosas Sunda tras la administración de la combinación anestésica, se evaluaron los tiempos de inducción, anestesia, recuperación, y antídoto (en los casos que se empleó medetomidina). En los gatos leopardo se determinaron los tiempos de inducción, anestesia y liberación. Durante la inmovilización química se registraron las frecuencias cardíaca y respiratoria, temperatura rectal y saturación de oxígeno por métodos no invasivos y se realizó punción venosa para el posterior estudio de la hematología y bioquímica sérica.

Las panteras nebulosas nacidas en cautividad procedieron de varias instituciones zoológicas de Tailandia y Estados Unidos. En estas panteras se utilizó una mezcla de dos leches de sustitución para carnívoros (Kitten Milk Replacer y Zoologic Milk Matrix 33/40) durante los primeros 28 días de vida. Entre los días 28 y 42 se combinó leche artificial con alimento para bebe (potito de pavo). A partir de los 43 días de vida se alimentó con leche de sustitución mezclada con carne de pollo o ternera, y se fue disminuyendo progresivamente el volumen de leche hasta realizar el destete en el día 90. Se tomaron registros de los pesos diarios de todos los cachorros desde el nacimiento hasta el destete, así como cualquier cambio fisiológico durante todo el proceso de lactancia artificial.

En la anestesia de las panteras nebulosas Sunda se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los tiempos de inducción, anestesia y recuperación. La anestesia de panteras nebulosas Sunda con medetomidina-ketamina presento tiempos de inducción más largos pero con tiempos de anestesia y recuperación significativamente más cortos. Las panteras nebulosas Sunda anestesiadas con medetomidina-ketamina presentaron frecuencias cardiacas significativamente más bajas, mientras que las panteras anestesiadas con tiletamina-zolacepam mostraron temperaturas corporales significativamente más bajas.

De los datos obtenidos en este estudio, se sugiere anestesiarse a las panteras nebulosas Sunda con una combinación de medetomidina-ketamina para evitar los largos periodos de recuperación observados con la anestesia de tiletamina-zolacepam.

En la hematología y bioquímica sérica de panteras nebulosas Sunda, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los recuentos de basófilos y los valores de creatinina quinasa de machos y hembras, siendo más elevados en machos. Aunque el recuento de basófilos fue más alto en los machos, no consideramos que tenga significancia clínica al estar situado entre los valores de referencia de otras especies de felinos. La creatinina quinasa es más elevada en machos probablemente debido a la gran diferencia en la masa muscular encontrada entre los sexos de esta especie. El grupo de panteras nebulosas Sunda salvajes presento un recuento total de leucocitos significativamente más elevado así como un valor más elevado de creatinina quinasa. El grupo de panteras nebulosas mantenidas en cautividad presento valores de calcio y sodio significativamente más elevados. La leucocitosis encontrada en el grupo de individuos salvajes puede ser debida al estrés originado por la captura. La creatinina quinasa es más elevada en los individuos capturados de la naturaleza posiblemente debido al esfuerzo físico realizado para intentar escapar de las trampas. Las diferencias en los niveles de calcio de la población cautiva pueden estar relacionadas con la dieta. En este estudio no se llegó a definir el origen de la elevación de los valores de sodio en los individuos cautivos, si bien estos valores se encuentran dentro de los valores de referencia para la especie más cercana filogenéticamente a la pantera nebulosa Sunda.

En la anestesia de gatos leopardo se diferenciaron tres grupos acorde con la combinación anestésica utilizada. Los gatos leopardo que fueron anestesiados solo con tiletamina-zolacepam o los que lo fueron con tiletamina-zolacepam y dosis adicional de ketamina presentaron tiempos de anestesia y liberación significativamente más cortos que aquellos que fueron anestesiados con tiletamina-zolacepam y dosis adicional de tiletamina-zolacepam. Ninguno de estos grupos mostró diferencias significativas en las frecuencias cardíaca o respiratoria o en la temperatura corporal.

En esta especie y según nuestro estudio, tras dosis iniciales de tiletamina-zolacepam, de no obtener un adecuado plano anestésico, es recomendable el empleo de dosis adicionales de ketamina, para evitar los largos periodos de anestesia y liberación observados en nuestro estudio tras dosis adicionales de tiletamina-zolacepam.

En la hematología y bioquímica sérica de los gatos leopardo salvajes capturados se observó una elevación significativa en los valores de aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa. Estos valores difirieron significativamente con los valores de referencia para la especie en condiciones de cautividad. Esto puede ser debido al intenso ejercicio a que los individuos son sometidos cuando intentan escapar de las trampas, ya que en nuestro estudio los animales capturados podrían permanecer en las trampas por periodos de tiempo muy prolongados, incluso superiores a las doce horas.

Acorde con nuestros datos, en la captura de panteras nebulosas Sunda y de gatos leopardo hay un incremento de las enzimas musculares, probablemente debido al esfuerzo muscular realizado por los individuos al intentar escapar. Por ese motive se recomienda monitorear las trampas para disminuir el tiempo de captura en estas especies.

De los cachorros de panteras nebulosas nacidas en cautividad, los machos presentaron un mayor peso al nacimiento que las hembras y aunque esta diferencia de peso se mantuvo durante toda la lactancia, al final de este proceso las diferencias dejaron de ser significativas.

El problema médico más prevalente encontrado durante la lactancia artificial de panteras nebulosas fue gastroenteritis. Casi un cuarto del total de cachorros presentó diarrea durante alguna de las etapas de cría. La causa de esta sintomatología no pudo definirse durante este estudio. Estos cachorros se recuperaron del proceso digestivo con tratamiento sintomático y la tasa de crecimiento de estos cachorros no difirió significativamente con los cachorros sanos.

La tasa de crecimiento para panteras nebulosas en cautividad es similar al descrito para otras especies de felinos de tamaño medio. La tasa de crecimiento es más alta en machos que en hembras durante toda la lactancia.

Según nuestro estudio, para programas de cría en cautividad de panteras nebulosas continentales, se recomienda la utilización de una mezcla de dos leches comerciales (KMR y Zoologic Milk Matrix 33/40) como sustituto lácteo para un desarrollo corporal apropiado para esta especie. Se debe prestar una especial atención a la aparición de cualquier cuadro digestivo que parece ser prevalente en esta especie en condiciones de cría en cautividad.

SUMMARY

The South East felids' habitat is enduring an immense change due to human activity. Habitat loss represents the main threat for these species thus proving it vital to create conservation programs in order to ensure their survival. Within these programs, the veterinary aspects play a key role for the adequate and safe management of these felids both in the wild and in captivity.

The field work (in-situ) goals of this thesis were to: evaluate the efficacy, anesthetic characteristics and physiological effects of two drug combinations (tiletamine-zolazepam; medetomidine-ketamine) used in two Bornean free-ranging felids (Sunda clouded leopard –*Neofelis diardi*- and leopard cat –*Prionailurus bengalensis borneoensis*). Also, this study evaluates the hematology and serum biochemistry in these two species after their capture by cage-traps.

The captive work (ex-situ) goals of this thesis were to: evaluate the efficacy, anesthetic characteristics and physiological effects of two drug combinations (tiletamine-zolazepam; medetomidine-ketamine) used in Sunda clouded leopards, as well as the hematology and serum biochemistry of this species in captivity. In addition, the body mass dynamics of captive-born hand reared mainland clouded leopards (*Neofelis nebulosa*) were studied to determine growth patterns in males and females, medical conditions related with the hand rearing process and evaluate the efficacy of the milk replacer used in the study.

The free-ranging Sunda clouded leopards were captured by cage traps and were anesthetized with two drug combinations (tiletamine-zolazepam; medetomidine-ketamine) depending on the anesthetic drugs availability. Captive Sunda clouded leopards were not born in captivity, and were anesthetized following the same protocols used for free-ranging Sunda clouded leopards.

Free-ranging leopard cats were captured by cage traps and were anesthetized using tiletamine-zolazepam, following boosters of ketamine, tiletamine-zolazepam or neither.

In Sunda clouded leopards induction, anesthesia, recovery and antidote (for those individuals anesthetized with medetomidine) times were evaluated following the administration of the anesthetic combination. Induction, anesthesia and release times were evaluated for the leopard cats.

During anesthesia for both species, heart rate, respiratory rate, rectal temperature and oxygen saturation were registered by non-invasive methods. Venipuncture was performed for hematology and serum biochemistry analysis.

The captive mainland clouded leopards were born at different zoological institutions within Thailand and the United States of America. For hand rearing a mixture of two milk replacers for carnivores (Kitten Milk Replacer –KMR- and Zoologic Milk Matrix 33/40) was used during the first 28 days of life. From day 28 to 42, cubs were fed a

mixture of milk replacer and turkey baby food. From day 43 milk replacer and chicken/beef meat was fed. At this point the amount of milk replacer was gradually decreased until weaning the cub off at 90 days of age. Each cub's weight was registered from day 0 (born) until weaning. Any physiological change was recorded as well during the hand rearing process.

We found statistical differences in the Sunda clouded leopards' induction, anesthesia and recovery times during the chemical immobilization. Anesthesia using medetomidine-ketamine presented longer induction times and shorter anesthesia and recovery times. Medetomidine-ketamine showed slower heart rates. Anesthesia using tiletamine-zolazepam showed lower body temperatures. From the data analysis obtained in this study we suggest to anesthetize Sunda clouded leopards using a combination of medetomidine-ketamine in order to avoid longer recovery times as observed during the tiletamine-zolazepam anesthesia.

In the hematology and serum biochemistry, male Sunda clouded leopards presented significantly higher basophil counts and creatinine kinase than females. Higher basophil counts could not be associated with any medical condition and it was found within the reference range for other felid species. Higher creatinine kinase values found in males were probably due to the greater muscular mass of males, in comparison with females.

Free-ranging Sunda clouded leopards presented higher white blood cell counts and creatinine kinase than captive clouded leopards. Captive Sunda clouded leopards presented higher calcium and sodium levels in comparison with the free-ranging population of this study. Higher white blood cell counts in free-ranging individuals were probably due to the stress of capture, higher creatinine kinase values were probably caused due to physical exertion while trying to escape from the trap. Higher calcium levels in the captive population were assumed to be related with the diet. In this study the cause of higher sodium values was not possible to be defined, although these values were found within the reference range of its cousin species.

We account for two groups during the leopard cats' chemical immobilization. Leopard cats in group 1 were anesthetized using only tiletamine-zolazepam. In group 2, leopard cats were anesthetized with tiletamine-zolazepam plus a booster of either ketamine or tiletamine-zolazepam. Leopard cats anesthetized with tiletamine-zolazepam plus a ketamine booster, presented significant shorter anesthesia and release times than those leopard cats anesthetized with tiletamine-zolazepam plus a tiletamine-zolazepam booster.

None of these groups showed significant differences in the heart rates, respiratory rates or body temperatures measured during the immobilizations. According to this study, if tiletamine-zolazepam does not achieve an adequate anesthesia plane, ketamine boosters are recommended to avoid longer anesthesia and release times observed after tiletamine-zolazepam boosters.

From the leopard cats' hematology and serum biochemistry we observed a significant elevation in the aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase values. These

values differed from the captive population reference range. This difference could be well explained due to the intense exercise the captured leopard cats performed while trapped, since confinement in the cage traps could last up to 12 hours.

The data obtained in this study indicates increase in muscle enzymes, during the capture of free-ranging Sunda clouded leopards and leopard cats, probably due to the physical exertion performed while attempting to escape from the traps. For that reason, it is suggested to monitor the traps with electronic devices to decrease the time the individual is trapped.

From the captive born mainland clouded leopards, males presented greater weight at birth than females. Although this difference in weight was registered during the whole hand rearing process, it was not significant at the weaning period.

The most relevant medical condition encountered during the hand rearing process was gastroenteritis. From the total number of cubs almost a quarter presented diarrhea during some point of the hand rearing process. The etiology could not be defined during the length of the study. Each cub which presented gastrointestinal symptoms recovered well following empirical treatment and no significant differences were found in their growth rate in comparison to the healthy group.

Growth rates for captive-born mainland clouded leopards are similar to those described in the literature for other medium sized felid species. Growth rates are higher in males than females during all hand rearing stages.

As suggested in this study, for mainland clouded leopards' captive breeding programs, the utilization of two commercial milk replacers (KMR and Zoologic Milk Matrix 33/40) seem adequate for a proper growth development for this species. While hand rearing this species, gastrointestinal clinical signs seem prevalent and early detection and application of measures is needed.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Antonaccio, M.J., Robson, R.D., Kerwin, L. 1973. Evidence for increased vagal tone and enhancement of baroreceptor reflex activity after xylazine (2-(2,6-dimethylphenylamino)-4-H-5,6-dihydro-1,3-thiazin) in anesthetized dogs. *European Journal of Pharmacology*, 23:311-315.
- Arthur, S.M., 1988. An evaluation of techniques for capturing and radio collaring fishers. *Wildlife Society Bulletin*, 16:417-421.
- Azlan, M.J., Lading, E., Munau. 2003. Bornean bay cat photograph and sightings. *Cat News*, 39:2.
- Azlan, M.J., Sanderson, J.G. 2007. Geographic distribution and conservation status of the bay cat *Catopuma badia*, a Bornean endemic. *Oryx*, 41:394-7.
- Azmi, R. 1998. Natural vegetation of the Kinabatangan floodplain. Part 1: An introduction to the natural vegetation including a preliminary checklist of the region. WWF Malaysia, Kota Kinabalu, Sabah.
- Baillie, J.E.M., Hilton-Taylor, C., Stuart, S.N. 2004. IUCN Red List of Threatened Species. A global species assessment. IUCN-The World Conservation Union, Gland, Switzerland.
- Bain, P.J. 2011. Liver. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp. 211-228.
- Baldwin, J.R., Winstead, J.B., Hayden-Wing, L.D., Kreeger, T.J., Dzialak, M.R. 2008. Field sedation of coyotes, red foxes, and raccoons with medetomidine and atipamezole. *Journal of Wildlife Management*, 72:1267-1271.
- Ballard, W.B., Ayres, L.A., Roney, K.E., Spraker, T.H. 1991. Immobilization of gray wolves with a combination of tiletamine hydrochloride and zolazepam hydrochloride. *Journal of Wildlife Management*, 55:71-74.
- Ballou, J.D., Foose, T.J. 1996. Demographic and genetic management of captive populations. *En: Wild Mammals in Captivity. Principles and Techniques*. Kleiman, D.G., Allen, M.E., Thompson, K.V., Lumpkin, S. (Eds). The University of Chicago Press, Chicago. Pp. 263-283.
- Ballou, J.D., Lacy, R.C. 1995. Identifying genetically important individuals for management of genetic variation in pedigreed population. *En: Population management for survival and recovery: analytical methods and strategies in small population conservation*. Ballou, J.D., Gilpin, M., Foose, T.J. (Eds). Columbia University Press, New York. Pp.76-111.
- Balmford, A., Leader-Williams, N., Green, M.J.B. 1995. Parks or arks: where to conserve large threatened mammals. *Biodiversity and Conservation*, 4:595-607.

- Beck, C.C. 1972. Chemical restraint of exotic species. *Journal of Zoo and Wild Animal Medicine*, 3:3-66.
- Belda, E. 2005. Estudio de la romifidina en sedación y anestesia disociativa felina. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
- Beltrán, J.F., Delibes, M., Recio, F., Aza, C. 1991. Hematological and serum chemical characteristics of the Iberian lynx (*Lynx pardinus*) in southwestern Spain. *Canadian Journal of Zoology*, 69(4):840-846.
- Beltrán, J.F., Tewes, M.E. 1995. Immobilization of ocelots and bobcats with ketamine hydrochloride and xylazine hydrochloride. *Journal of Wildlife Diseases*, 31(1):43-48.
- Bengis, R.G., Keet, D.F. 2000. Chemical capture of free-ranging lions. *En: Proceedings of the North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, USA. Pp.1029-1031.
- Bennet, R.R. 1969. The clinical use of 2-(ethylaminol)-2-(2-thienyl)-cyclohexanone HCl (Cl 634) as an anesthetic of the cat. *American Journal of Veterinary Research*, 30:1469-1470.
- Benson, G.J., Thurmon, J.C., Neff-Davis, C.A., Corbin, J.E., Davis, L.E., Wilkinson, B., Tranquilli, W.J. 1984. Effect of xylazine hydrochloride upon plasma, glucose and serum insulin concentrations in adult pointer dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 20:791-794.
- Bernard, H., Baking, E.L., Matsubayashi, H., Ahmad, A.H. 2012. Records from Bornean felids from and around Tabin Wildlife Reserve, Sabah, Malaysia. *Cat News*, 56:4-7.
- Bezuijen, M.R. 2000. The occurrence of the flat-headed cat *Prionailurus planiceps* in south-east Sumatra. *Oryx*, 34:222-226.
- Binczik, G., Reindl, N.J. 1987. A neonatal growth model for captive Amur tigers. *En: Tigers of the world*. Tilson, R., Seal, U. (Eds). Noyes Publications Park Ridge, New Jersey. Pp.167-170.
- Blundell, G.M., Kern, J.W., Bowyer, R.T., Duffy, L.K. 1999. Capturing river otters: a comparison of hancock and leg-hold traps. *Wildlife Society Bulletin*, 27:184-192.
- Booth, N. 1988. Intravenous and other parenteral anesthetics. *En: Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 6 Edn. Booth, N.H., McDonald, L.E. (Eds). Iowa State University Press, Ames, Iowa. Pp.212-274.
- Bordeaux, J.S., Martires, K.J., Goldberg, D., Pattee, S.F., Fu, P., Maloney, M.E. 2011. Prospective evaluation of dermatologic surgery complications including patients on multiple antiplatelet and anticoagulant medications. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 65(3):576-583.

- Bowkett, A.E. 2009. Recent captive breeding proposals and the return of the ark concept to global species conservation. *Conservation Biology*, 23(3):773-776.
- Boyce, W., Yuill, T., Homan, J., Jessup, D. 1992. A role for veterinarians in wildlife health and conservation biology. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 400(4):435-437.
- Brodie, J., Giordano, A.J. 2012. Density of the vulnerable Sunda clouded leopard *Neofelis diardi* in a protected area in Sabah, Malaysian Borneo. *Oryx*, 46(3):427-430.
- Brockus, C.W. 2011. Erythrocytes. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp. 3-39.
- Broom, D.M., Johnson, K.G. 1993. (Eds). *Stress and Animal Welfare*. Chapman & Hall, London. Pp. 211.
- Bruss, M.L. 1997. Lipids and ketones. *En: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5^a Edn. Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (Eds). Academic Press. London, New York, Tokyo. Pp. 83-111.
- Buckley-Beason, V.A, W.E. Johnson, W.G. Nash, R.Stanyon, J.C. Menninger, C.A.Driscoll, J.Howard, M.Bush, J.E.Page, M.E.Roelke, G.Stone, P.Martelli, C.Wen, L.Ling, R.K.Duraisingam, V.P.Lam and S.J.O'Brien. 2006. Molecular evidence for species-level distinctions in clouded leopards. *Current Biology*, 16:2371-2376.
- Bush, B.M. 1991. *Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians*. Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK. Pp. 515.
- Calderwood, H.W., Klide, A.M, Cohn, B.B., Soma, L.R. 1971. Cardiorespiratory effects of tiletamine in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 32(10):1511-1515.
- Catling, P.C., Burt, R.J., Kooyman, R. 1997. A comparison of techniques used in a survey of the ground-dwelling and arboreal mammals in forests in North-eastern New South Wales. *Wildlife Research*, 24:417-432.
- Carbone, C., Gittleman, J.L. 2002. A common rule for the scaling of carnivore density. *Science*, 295:2273-2276.
- Casas-Díaz, E. 2007. Evaluación del estrés de captura mediante métodos físicos y químicos en la cabra montés (*Capra pirenaica*) y su modulación mediante tranquilizantes. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra. España.
- Cattet, M., Boulanger, J., Stenhouse, G., Powell, R.A., Reynolds-Hogland, M.J. 2008. An evaluation of long-term capture effects in ursids: implications for wildlife welfare and research. *Journal of Mammalogy*, 89(4):973-990.

- Chapple, R.S., English, A.W., Mulley, R.C., Lepherd, E.E. 1991. Haematology and serum biochemistry of captive unsedated chital deer (*Axis axis*) in Australia. *Journal of Wildlife Diseases*, 27:396-406.
- Chege, S., Toosy, A., Howlett, J., Saker, A., Kagira, J. 2013. Haematology and biochemistry values of captive sand cats. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(2): 141-144.
- Chemblink, Inc. 2011. Tiletamine, Zolazepam, Medetomidine, Ketamine. March 2011. <http://www.chemblink.com/products/50-00-0.htm>. [Acceso: 15 Febrero 2014]
- Chen, C., Ensor, G. 1968. 2-(Ethylamino)-2-(2-Thienyl) Cyclohexanone HCl (CI-634): A taming, incapacitating, and anesthetic agent for the cat. *American Journal of Veterinary Research*, 29:863.
- Cheyne, S.M., Macdonald, D.W. 2011. Wild felid diversity and activity patterns in Sabangau peat-swamp forest, Indonesian Borneo. *Oryx*, 45(01):119-124.
- Christiansen, P. 2006. Sabertooth characters in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa* Griffiths 1821). *Journal of Morphology*, 267:1186-98.
- Cook, C.J., Mellor, D.J., Harris, P.J., Ingram, J.R., Matthews, L.R. 2000. Hands-on and hands-off measurement of stress. *En: The Biology of Animal Stress*. Moberg, G.P., Mench, J.A. (Eds). CABI Publishing. Pp. 123-146.
- Cockrem, J.F. 2013. Individual variation in glucocorticoid stress responses in animals. *General and Comparative Endocrinology*, 181:45-58.
- Cramer, J. 2007. Mountain lion attacks hunter near Kalispell. Missoulain. Missoula, Montana.
- Cross, J.P., MacKintosh, C.G., Griffin, J.F.T. 1988. Effect of physical restraint and xylazine sedation on haematological values in red deer (*Cervus elaphus*). *Research in Veterinary Science*, 45:281-286.
- Currier, M.J.P., Russell, K.R. 1982. Hematology and blood chemistry of the mountain lion (*Felis concolor*). *Journal of Wildlife Diseases* 18(1):99-104.
- Curro, T.G., Okeson, D., Zimmermann, D., Armstrong, D.L., Simms, L.G. 2004. Xylazine-midazolam-ketamine versus medetomidine-midazolam-ketamine anesthesia in captive Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 35:320-327.
- Damania, R., Seidensticker, J., Whitten, T., Sethi, G., Mackinnon, K., Kiss, A., Kushlin, A. 2008. A Future for Wild Tigers. World Bank, Washington DC. Pp.2-24.
- Davies, D.D. 1962. Mammals of the lowland rainforest of the North of Borneo. *Bulletin of the National Museum of Singapore*, 31:1-29.

- Deag, J.M., Lawrence, C.E., Manning, A. 1987. The consequences of differences in litter size for the nursing cat and her kittens. *Journal of Zoology (Lond)*, 213: 153-179.
- Deem, S.L. 2007. Role of the zoo veterinarian in the conservation of captive and free-ranging wildlife. *International Zoo Yearbook*, 41:3-11.
- Deem, S.L., Karesh, W.B., Weisman, W. 2001. Putting theory into practice: wildlife health in conservation. *Conservation Biology*, 13:1246-1256.
- Deem, S.L., Ko, J.C., Citino, B. 1998. Anesthetic and cardiorespiratory effects of tiletamine-zolazepam-medetomidine in cheetahs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213:1022-1026.
- Dickman, A.J. 2005. An assessment of pastoralist attitudes and wildlife conflict Rungwa in the Rungwa-Ruaha region, Tanzania, with particular reference to large carnivores. Tesis Master. University of Oxford, Oxford, UK.
- Dinerstein, E., Loucks, C., Wikramanayake, E., Ginsberg, J., Sanderson, E., Seidensticker, J., Forrest, J., Bryja, G., Heydlauff, A., Klenzendorf, S., Leimbruger, P., Mills, J., O'Brien, T.G., Shrestha, M., Simmons, R., Songer, M. 2007. The fate of wild tigers. *BioScience*, 57:508-14.
- Dinets, V. 2003. Records of small carnivores from Mount Kinabalu, Sabah, Borneo. *Small Carnivore Conservation*, 28:9.
- Duckworth, J.W., Salter, R.E., Khounboline, K. 1999. Wildlife in Lao DPR: 1999 Status Report. IUCN, Vientiane, Laos. Pp.192-197.
- Dunbar, M.R., Nol, P., Linda, S.B. 1997. Hematologic and serum biochemical reference intervals for Florida panthers. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(4): 783-789.
- Dundee, J.W., Halliday, N.J., Harper, K.W., Brogden, R.N. 1984. Midazolam: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs*, 28:519-43.
- Edwards, M.S., Hawes, J. 1997. An overview of small felid hand-rearing techniques and a case study for Mexican margay *Leopardus wiedii glauzcla* at the Zoological Society of San Diego. *International Zoo Yearbook*, 35:90-94.
- England, G.C.W., Clarke, K.W., Goossens, L. 1992. A comparison of the sedatives effects of three α -2 adrenoceptor agonists (romifidine, detomidine and xylacine) in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 15:194-201.
- England, G.C.W., Hammond, R. 1997. Dose-sparing effects of romifidine premedication for thiopentone and halothane anesthesia in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 38:141-146.
- Evans, E.W. 2011. Proteins, lipids, and carbohydrates. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp.173-200.

- Fahlman, A. 2008. Advances in wildlife immobilization and anaesthesia. Clinical and physiological evaluation in selected species. Tesis Doctoral. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, Suecia. Pp.19.
- Fahlman, A., Loveridge, A., Wengham, C., Foggin, C., Arnemo, J.M. and Nyman, G. 2005. Reversible anaesthesia of free-ranging lions (*Panthera leo*) in Zimbabwe. South African Veterinary Association, 76(4):187–192.
- Fazio, J.M. 2010. Behavioral assessment of the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*): a comparative analysis of reproductive success. Tesis Máster. George Mason University. Fairfax, Virginia, USA.
- Fellner, V.K. 1968. Erste natiirliche Aufzucht von Nebel-parden (*Neofelis nebulosa*) in einem Zoo. Zool Garten. 35(3):8-136.
- Fernández-Morán, J. 2003. Aspectos veterinarios del programa de reintroducción de la nutria euroasiática (*Lutra lutra*): hematología, anestesia y control de la respuesta de estrés. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.
- Fernandez, N.J., Kidney, B.A. 2007. Alkaline phosphatase: beyond the liver. Veterinary Clinical Pathology, 36(3):223-233.
- Ferreras P., Rodríguez, A., Palomares, F., Delibes, M. 2010. Iberian lynx: the uncertain future of a critically endangered cat. *En: Biology and Conservation of Wild Felids*. Macdonald, D.W., Loveridge, A.J. (Eds). Oxford University Press. Pp. 514.
- Fletcher, N. 2000. Clouded leopard (*Neofelis nebulosa*) Husbandry Guidelines. Grand Rapids, Michigan: John Ball Zoological Garden. Pp.32-40.
- Fletcher, N. 2007. Clouded leopard (*Neofelis nebulosa*) Species Survival Plan Masterplan 2007. Clouded leopard (*Neofelis nebulosa*) Species Survival Plan Masterplanning meeting. *En: Felid Taxon Advisory Group (TAG) Association of zoos and Aquariums 2007 Annual Report*. Herrick, J., Fletcher, N., Swanson, W. (Eds). Nashville Zoo, Tennessee.
- Forsyth, S.F., Machon, R.G., Walsh, V.P. 1999. Anaesthesia of a Sumatran tiger on eight occasions with ketamine, medetomidine and isoflurane. New Zealand Veterinary Journal, 47:105-108.
- Fowler, M.E. 1986. Restraint. *En: Zoo and Wild Animal Medicine*. 2nd Edn. Fowler, M.E. (Ed). W.B. Saunders Company, Philadelphia. Pp.38-50.
- Frank, L., Simpson, D., Woodroffe, R. 2003. Foot snares: an effective method for capturing African lions. Wildlife Society Bulletin, 31(1):309-314.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. (Eds). 2002. Introduction to conservation genetics, Cambridge University Press, Cambridge.

- Franzmann, A.W., Thorne, E.T. 1970. Physiologic values in wild bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*) at capture, after handling, and after captivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 157(5):647.
- Fuller, T.K., Kerr, K.D., Karns, P.D. 1985. Hematologic and serum chemistry of bobcats in north central Minnesota. *Journal of Wildlife Diseases*, 21: 29–32
- Furtado, M.M., Carrillo-Percestequi, S.E., Jácomo A.T.A., Powell, G., Silveira, L., Vynne, C., Sollmann, R. 2008. Studying jaguars in the wild: past experiences and future perspectives. *Cat News Special Issue*, 4:41-47.
- García, I., Napp, S., Zorrilla, I., Vargas, A., Pastor, J., Muñoz, A., Martínez, F. 2010. Determination of serum biochemical reference intervals for the Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *The Veterinary Journal*, 183:201-204.
- Gittleman, J.L., Oftedal, O.T. 1987. Comparative growth and lactation energetic in Carnivores. *Symposia of the Zoological Society of London*, 57:41–77.
- Goossens, B., Ambu, L.N. 2012. Sabah Wildlife Department and 10 years of research: towards a better conservation of Sabah's wildlife. *Journal of Oil Palm & the Environment*, 3:38-51.
- Gordon, C.H., Stewart, A.M.E. 2007. The use of logging roads by clouded leopards. *Cat News*, 47:12–13.
- Grant, K. 2005. Hand-rearing cheetah (*Acinonyx jubatus*) cubs: milk formulas. *Animal Keeper's Forum*, 7/8:294-302.
- Grassman, L.I.Jr., Tewes, M.E. 2002. Marbled cat pair in northeastern Thailand. *Cat News*, 36:19–20.
- Grassman, L.I.Jr., Austin, S.C., Tewes, M.E., Silvy, N.J. 2004. Comparative immobilization of wild felids in Thailand. *Journal of Wildlife Diseases*, 40(3):575-578.
- Grassman, L.I.Jr., Tewes, M.E., Silvy, N.J., Kreetiyutanont, K. 2005a. Spatial organization and diet of the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in north-central Thailand. *Journal of Zoology*, 266:45–54.
- Grassman, L.I.Jr., Tewes, M.E., Silvy, N.J., Kreetiyutanont, K. 2005b. Ecology of three sympatric felids in a mixed evergreen forest in North-Central Thailand. *Journal of Mammology*, 86:29-38.
- Greenblatt, D.J., Abernethy, D.R. 1985. Midazolam pharmacology and pharmacokinetics. *Anesthesia Review*, 12:17-20.

- Greene, S.A., Thurmon, J.C. 1988. Xylazine – a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 11(4):295-313.
- Grimm; K.A., Lamont, L.A. 2007. Clinical Pharmacology. *En: Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*. 1st Edn. West, G., Heard, D., Caulkett, N. (Eds). Blackwell Publishing Professional. Ames Iowa, USA. Pp.3-37.
- Groenink, L., Gujten, J. Van Der, Zethof, T., Heyden, J. Van Der, Olivier, B. 1994. Stress-induced hyperthermia in mice: hormonal correlates. *Physiology & Behavior*, 56:747-749.
- Guggisberg, C.A.W. 1975. *Wild Cats of the World*. David & Charles, Newton Abbot, UK. Pp.235.
- Gunkel, C., Lafortune, M. 2007. Felids. *En: Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*. 1st Edn. West, G., Heard, D., Caulkett, N. (Eds). Blackwell Publishing Professional, Ames Iowa, USA. Pp.443-459.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (Eds). 2000. *Textbook of medical physiology* 10th Edn. Saunders, Philadelphia.
- Haas, D.A., Harper, D.G. 1992. Ketamine: A review of its pharmacologic properties and use in ambulatory anesthesia. *Anesthesia Progress*, 39:61-68.
- Haines, A. M., Grassman, L. I.Jr., Tewes, M. E. 2004. Survival of radiocollared adult leopard cats *Prionailurus bengalensis* in Thailand. *Acta Theriologica*, 49:349-56.
- Hall, R. L., Bender, H.S. 2011. Muscle. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp. 283-289.
- Harlow, H.J., Thorne, E.T., Williams, E.S., Belden, E.L., Gern, W.A. 1987. Cardiac frequency: a potential predictor of cortisol levels during acute and chronic stress exposure in Rocky Mountain bighorn sheep (*Ovis Canadensis canadensis*). *Canadian Journal of Zoology*, 65:2028-2034.
- Harmsen, B.J, Foster, R.J., Silver, S.C., Ostro, L.E.T and Doncaster, C.P. 2010. The ecology of jaguars in the Cockscomb Basin Wildlife Sanctuary, Belize. *En: Biology and Conservation of Wild Felids*. Macdonald, D.W., Loveridge, A.J. (Eds). Oxford University Press. Pp.409.
- Haskins, S.C., Patz, J.D., Farver, T.B. 1986. Xylazine and xylazine-ketamine in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 47:636-641.
- Hatting, J. 1992. Stress measurements in animals. *En: The use of tranquilizers in Wildlife*. Ebedes, H. (Ed). Department of Agricultural Development, Sinoville Printers, Pretoria, South Africa. Pp.11-12.

- Hawkey, C., Hart, M., 1986. Haematological reference values for pumas, lions, tigers, leopards, jaguars and cheetahs. *Research in Veterinary Science*, 41:268–269.
- Hayward, M.W., O’Brien, J., Kerley, G.I.H. 2007. Carrying capacity of large African predators: predictions and tests. *Biological Conservation*, 139:219–29.
- Hearn, A.J., Bricknell, S. 2003. Bay cat sightings in Kalimantan. *Cat News*, 39:3.
- Hearn A.J., Ross J., Pamin D., Bernard H., Hunter L., Macdonald D.W. 2013. Insights into the spatial and temporal ecology of the Sunda clouded leopard (*Neofelis diardi*). *Raffles Bulletin of Zoology*, 61(2):871-875.
- Hearn, A. 2009. Comunicacion oral. First Steps Towards the Conservation of Wild Cats in Sabah. Report of the Inaugural International Workshop on the Bornean Wild Cats. 4th-5th November, Penampang, Sabah, Malaysia.
- Hedberg, G. 2002. Exotic Felids. *En: Hand rearing wild and domestic mammals*. Gage, L. (Ed). Iowa State Press. Pp.207-221.
- Hedrick, P.W. (Ed). 2005. *Genetics of Populations*, 3rd Edn. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts. Pp.237-299.
- Heidt, G.A., Rucker, R.A., Kennedy, M.L., Baeyens, M.E. 1988. Hematology, intestinal parasites, and selected disease antibodies from a population of bobcats (*Felis rufus*) in Central Arkansas. *Journal of Wildlife Diseases*, 24:180–183.
- Hellyer, P., William III, W., Hubbell, J. A., Sally, J. 1988. Cardiorespiratory effects of the intravenous administration of tiletamine-zolazepam to cats. *Veterinary Surgery*, 17(2):105-110.
- Holden, J. 2001. Small cats in Kerinci Seblat National Park, Sumatra, Indonesia. *Cat News*, 35:11–14.
- Holst, D.V. 1998. The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Advances in the Study of Behavior*, 27:1-131.
- Holt, W.V., Pickard, A.R., Prather, R.S. 2004. Wildlife conservation and reproductive cloning. *Reproduction*, 127(3):317–324.
- Hon, J. 2011. A new record for the Borneo bay cat in central Sarawak, Malaysian Borneo. *Cat News*, 55:4-6.
- Howard, J.G., Byers, A.P., Brown, J.L., Barret, S.J., Evans, M.Z., Schwartz, R.J., Wildt, D.E. 1996. Ovulation induction and laparoscopic intrauterine artificial insemination in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Zoo Biology*, 15:55-69.
- Howard, J.G., Pelican, K., Schwartz, R., Lang, K., Passaro, R., Tunwattana, W., Tongthainan, D., Kamolnorranath, S., Dumnui, S., Jenks, K., Damrongchainarong, K.,

- Redford,T., Leimgruber, P., Wildt, D.E. 2007. Developing an integrated in situ/ex situ clouded leopard conservation program in Thailand. *En: Proceedings American Association of Zoo Veterinarians, American Association of Wildlife Veterinarians, AZA/NAG Joint Conference. USA*
- Howard, J.G., Rogers, Q.R., Kock, S.A., Goodrowe, K.L., Montali, R.J., Bush, R.M. 1987. Diet-induced taurine deficiency retinopathy in leopard cats (*Felis bengalensis*). *En: Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians. USA. Pp. 496-498.*
- Hsu, W.H. 1983. Antagonism of xylazine-induced CNS depression by yohimbine in cats. *Californian veterinarian*, 37:19-21.
- Hsu, W.H., Schaffer, D.D., Hanson, C.E. 1987. Effects of tolazoline and yohimbine on xylazine induced central nervous system depression, bradycardia, and tachypnea in sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190:423-426.
- Hutchins, M., Foose, T., Seal, U.S. 1991. The role of veterinary medicine in endangered species conservation. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 22(3):277-281.
- Ilkiw, J.E., Farver, T.B., Suter, C., McNeal, D., Steffey, E.P. 2002. The effect of intravenous administration of variable-dose Flumazenil after fixed-dose ketamine and midazolam in healthy cats. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapy*, 25:181–188
- IUCN/SSC. 2007a. Regional Conservation Strategy for the Conservation of Cheetah and Wild Dogs in Eastern Africa. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.
- IUCN/SSC. 2007b. Regional Conservation Strategy for the Cheetah and African Wild Dog in Southern Africa. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.
- IUCN/SSC. 2007c. Status and conservation needs of cheetahs in Southern Africa. *Cat News, Special Issue No. 3. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.*
- IUCN 2008. IUCN Red List of Threatened Species. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.
- IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org>. [Acceso25 Mayo2011]
- IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org>. [Acceso10 Marzo 2012]
- Jackson, R.M. 1996. Home range, movements and habitat use of snow leopard (*Uncia uncia*) in Nepal. Tesis Doctoral. University of London.
- Jain, N.C. 1993. Essentials in Veterinary Haematology. Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania. Pp. 417.

- Jalanka, H.H., Roeken, B.O. 1990. The use of medetomidine, medetomidine-combinations, and atipamezole in nondomestic mammals: a review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 21:259–282.
- Jani, R.G., Sabapara, R.H. 2010. Serum biochemical study of major elements of captive Asiatic Lions *Panthera leo persica*. *Journal of Threatened Taxa*, 2(2): 724.
- Jennings, A.P., Seymour, A.S., Dunstone, N. 2006. Ranging behaviour, spatial organization and activity of the Malay civet (*Viverra zibetha*) on Buton Island, Sulawesi. *Journal of Zoology*, 268:63–71
- Jessup, D.A. 1982. Restraint and chemical immobilization of carnivores and furbearers. *En: Chemical immobilization of North American wildlife*. Nielsen, L., Haigh, J.C., Fowler, M.E. (Eds). Wisconsin Humane Society, Inc., Milwaukee, Wisconsin. Pp.227–244.
- Johansson, O., Malmsten, J., Mishra, C., Lkhagvajav, P., McCarthy, T. 2013. Reversible immobilization of free-ranging snow-leopards (*Panthera uncia*) with a combination of medetomidine and tiletamine-zolacepam. *Journal of Wildlife Diseases*, 49(2):338–346.
- Johnson, W. E., Eizirik, E., Pecon-Slattery, J., Murphy, W.J., Antunes, A., Teeling, E., O'Brien, S.J. 2006. The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. *Science*, 311:73-77.
- Kaneko, J., Harvey, J.M., Bruss, M.L. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5Edn. Academia Press, London.
- Kautz, R., Kawula, R., Hootor, T., Comiskey, J., Jansen, D., Jennings, D., Kasbohm, J., Mazzotti, F., McBride, R., Richardson, L., Root, R. 2006. How much is enough? Landscape-scale conservation for the Florida panther. *Biological Conservation*, 130:118–33.
- Kitchener, A.C., Yasuma, S., Andau, M., Quillen, P. 2004. Three bay cats (*Catopuma badia*) from Borneo. *Mammalian Biology*, 69:349–53.
- Kitchener, A.C., Beaumont, M.A., Richardson, D. 2006. Geographical variation in the clouded leopard, *Neofelis nebulosa*, reveals two species. *Current Biology*, 16:2377–83.
- Klein, L.V., Klide, A.M. Central. 1989. α -2 adrenergic and benzodiazepine agonists and their antagonists. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 20:138–153.
- Klide, A.M., Calderwood, H.W., Soma, L.R. 1975. Cardiopulmonary effects of xylazine in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 36:931-935.

- Klos, H., Lang, E.M. 1982. Handbook of zoo medicine: Diseases and treatment of wild animals in zoos, game parks, circuses and private collections. Van Nostrand Reinhold Company, New York. Pp.453.
- Koehler, G.M., Hornocker, M.G. 1991. Seasonal resource use among mountain lions, bobcats, and coyotes. *Journal of Mammalogy*, 72:391-396.
- Kocan, A.A., Blouin, E.F., Gunn, B.L. 1985. Hematologic and serum chemical values for freeranging bobcats, *Felis rufus* (Schreber), with reference to animals with natural infections of *Cytauxzoon felis* Kier, 1979. *Journal of Wildlife Diseases*, 21: 190-192.
- Kocan, A.A., Glenn, B.L., Thedford, T.R., Doyle, R., Waldrup, K., Kubat, G., Shaw, M.G. 1981. Effects of chemical immobilization on hematologic and serum chemical values in captive white-tailed deer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 179:1153-1156.
- Kock, M.D., Clark, R.K., Franti, C.E., Jessup, D.A., Wehausen, J.D. 1987. Effects of capture on biological parameters in free-ranging bighorn sheep (*Ovis canadensis*): evaluation of normal, stressed and mortality outcomes and documentation of postcapture survival. *Journal of Wildlife Diseases*, 23(4):652-662.
- Kolbe, J.A., Squires, J.R., Parker, T.W. 2003. An effective box trap for capturing lynx. *Wildlife Society Bulletin*, 31:980-985.
- Kramer, J.W., Hoffman, W.E. 1997. Clinical enzymology. *En: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5^a Edn. Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (Eds). Academic Press. London, New York, Tokyo. Pp.303-325.
- Kreeger, T., Seal, U., Callahan, M., Beckel, M. 1990a. Physiological and behavioral responses of gray wolves (*Canis lupus*) to immobilization with tiletamine and zolazepam. *Journal of Wildlife Diseases*, 26(1):90-94.
- Kreeger, T.J., White, P.J., Seal, U.S., Tester, J.R. 1990b. Pathological responses of red foxes to foothold traps. *Journal of Wildlife Management*, 54:147-160.
- Kreeger, T.J. (Ed). 2002. Handbook of Wildlife Chemical Immobilization. International Edition. Wildlife Pharmaceuticals, Inc., Fort Collins, Colorado, USA.
- Kreeger, T.J., Armstrong, D.L. 2010. Tigers and Telazol®: The Unintended Evolution of Caution to Contraindication. *Journal of Wildlife Management*, 74(6):1183-1185.
- Krefetz, R.G., McMillin, G.A. 2005. Enzymes. *En: Clinical chemistry: principles, procedures, correlations*, 5th ed. Bishop, M.L., Fody, E.P., Schoeff, L.E. (Eds). Baltimore, Maryland. Pp. 236-261.
- Kroneberg, G., Oberoff, A., Hoffmeister, F., Wirth, W. 1967. Zur pharmakologic von 2-(2,6-dimethylphenylamine)-4-H-5,6-dihydro-1,3-thiazin (Bayer 1470), eines hemmstoffes

- adrenergicund cholinergischer neurone. Archives of Experimental Pathology and Pharmacology, 258:257-260.
- Lackman-Ancrenaz, I., Ancrenaz, M., Saburi, R. 2001. The Kinabatangan Orangutan Conservation Project. En: The apes: challenges for the 21st Century. Brookfield Zoo (Ed). Brookfield Zoo, Chicago. Pp.262-268.
- Ladewig, J. 1987. Endocrine aspects of stress: evaluation of stress reactions in farm animals. En: Biology of stress in farm animals: an integrative approach. Wiepkema, P.R., van Adrichem, P.W.M. (Eds). Martines Nijhoff Publishers: Dordrecht. Pp.13-25.
- Laird, N.M., Ware, J.H. 1982. Random-effects models for longitudinal data. Biometrics, 38:963-974.
- Lamont, L.A., Bulmer, B.J., Grimm, K.A., Tranquilli, W.J., Sisson, D.D. 2001. Cardiopulmonary evaluation of the use of medetomidina hydrochloride in cats. American Journal of Veterinary Research, 62:1745–1749.
- Larkin, R.P., VanDeelen, T.R., Sabick, R.M., Gosselink, T.E., Warner, R.E. 2003. Electronic signaling for prompt removal of an animal from a trap. Wildlife Society Bulletin, 31(2): 392-398.
- Latimer, K.S., Prasse, K.W., Mahaffey, E.A. 2003. Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. Blackwell, Ames, Iowa.
- Law, G., Tautner, P. 1998. Behaviour of a captive pair of clouded leopards (*Neofelis nebulosa*): introduction without injury. Animal Welfare, 7:57-76.
- Leakey, R., Lewin, R. 1996. The sixth extinction: patterns of life and the future of the humankind. New York, NY: Anchor Books, Doubleday.
- Leberg, P.L., Firmin, B.D. 2008. Role of inbreeding depression and purging in captive breeding and restoration programmes. Molecular Ecology, 17:334–343
- Lin, H.C., Passler, T., Wilborn, R.R., Taintor, J.S., Caldwell, F.J. 2015. A review of the general pharmacology of ketamine and its clinical use for injectable anaesthesia in horses. Equine Veterinary Education, 27(3):146-155.
- Lin, H.C., Thurmon, J.C., Benson, G.J., Tranquilli, W.J. 1993. Telazol—A review of its pharmacology and use in veterinary medicine. Journal Veterinary Pharmacology and Therapy, 16:383–418.
- Linhart, S.B., Dasch, G.J. 1992. Improved performance of padded jaw traps for capturing coyotes. Wildlife Society Bulletin, 20:63-66.
- Litvaitis, J.A., Harrison, D.J. 1989. Bobcat–coyote niche relationships during a period of coyote population increase. Canadian Journal of Zoology, 67:1180–1188.

- López, G., López-Parra, M., Fernández, L., Martínez-Granados, C., Martínez, F., Meli, M.L., Gil-Sánchez, J.M., Viqueira, M., Díaz-Portero, M.A., Cadenas, R., Lutz, H., Vargas, A., Simón, M.A. 2009. Management measures to control feline leukemia virus outbreak in the endangered Iberian lynx. *Animal Conservation*, 2009:1-10
- Loveridge, G.G. 1987. Some factors affecting kitten growth. *Animal Technology*, 38:9-18.
- Loveridge, A.J, Hemson, G., Davidson, Z., Macdonald, D.W. 2010. African lions on the edge: reserve boundaries as “attractive sinks”. *En: Biology and Conservation of Wild Felids*. Macdonald, D.W., Loveridge, A.J. (Eds). Oxford University Press. Pp.289.
- Lynam, A.J., Round, P., Brockelman, W.Y. 2006. Status of Birds and Large Mammals of the Dong Phrayayen-Khao Yai Forest Complex, Thailand. Biodiversity Research and Training Program and Wildlife Conservation Society, Bangkok, Thailand.
- Ma, Y. 2005. Changes in Amur tiger distribution in northeast China in the past 100 years. Recovery of the Wild Amur Tiger Population in China: Progress and Prospect. *En: Proceedings of the 2000 International Workshop on Wild Amur Tiger Population Recovery Action Plan*, Harbin, China and the 2002 National Workshop on Progress of Wild Amur Tiger Population Recovery Action, Hunchun, China. China Forestry Publishing House, Beijing, China. Pp.164-170.
- Macdonald, D.W. (Ed). 2001. *The New Encyclopedia of Mammals*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Macdonald, D.W., Loveridge, A.J., Nowell, K. 2010. *Dramatis personae: an introduction to the wild felids*. *En: Biology and Conservation of Wild Felids*. Macdonald, D.W., Loveridge, A.J. (Eds). Oxford University Press. Pp.3-59.
- Maddox, T.M. 2003. The ecology of cheetahs and other large carnivores in a pastoralist-dominated buffer zone. Tesis Doctoral. University College London and Institute of Zoology, London, UK.
- Magin, C.D., Johnson, T.H., Groombridge, B., Jenkins, M., Smith, H. 1994. Species extinctions, endangerment and captive breeding. *En: Creative Conservation: Interactive Management of Wild and Captive Animals*. Olney, P.J.S., Mace, G.M., Feistner, A.T.C. (Eds). London: Chapman & Hall. Pp.3-31.
- Mainka, S.A. 2001. The veterinarian's role in biodiversity conservation. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32(2):165-167.
- Mallinson, J.J.C. 1995. Conservation breeding programmes: an important ingredient for species survival. *Biodiversity and Conservation*, 4:617-635.
- Marco, I., Martínez, F., Pastor, J., Lavin, S. 2000. Hematologic and serum chemistry values of the captive European wildcat. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(3):445-449.

- Marker, L., O'Brien, S.J. 1989. Captive breeding of the cheetah (*Acinonyx jubatus*) in North American zoos (1871–1986). *Zoo Biology*, 8(1):3-16.
- Marker, L.L., Dickman, A.J., Mills, M.G.L., Macdonald, D.W. 2003. Aspects of the management of cheetahs, *Acinonyx jubatus jubatus*, trapped on Namibian farmlands. *Biological Conservation*, 114:401–412.
- Marks, C.A. 2010. Haematological and biochemical responses of red foxes (*Vulpes vulpes*) to different capture methods and shooting. *Animal Welfare*, 19(3):223-234.
- Marsh, C.W., Greer, A.G. 1992. Forest land-use in Sabah, Malaysia: an introduction to Danum Valley. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 335:331–339.
- Massopust, L.C., Wolin, L.R., Albin, M.S. 1973. The effects of a new phencyclidine derivative and diazepam derivative on the electroencephalographic and behavioral responses in the cat. *T.-I.-T. journal of Life Sciences*, 3(1):1-10.
- Matsuda, I., Tuuga, A., Higashi, S. 2008. Clouded leopard (*Neofelis diardi*) predation on proboscis monkeys (*Nasalis larvatus*) in Sabah, Malaysia. *Primates*, 49(3):227-231.
- McBride Jr, R.T., McBride, R.T. 2007. Safe and selective capture technique for jaguars in the Paraguayan Chaco. *The Southwestern Naturalist*, 52(4):570-577.
- McCarthy, J.L., Belant, J.L., Breitenmoser-Würsten, C., Hearn, A.J., Ross, J. 2013. Live trapping carnivores in tropical forests: tools and techniques to maximise efficacy. *Raffles Bulletin of Zoology*, 28:55-66.
- McGovern, I.M. 1998. Bringing out the reclusive leopard: hand-rearing clouded leopards (*Neofelis nebulosa*). *Animal Keepers Forum*, 25:275-279.
- Meier, J.E. 1986. Neonatology and hand-rearing of carnivores. *En: Fowler, M.E.(Ed.) Zoo and wild animal medicine*, 2^a Edn. Philadelphia: W. B. Saunders. Pp. 842-52.
- Meijaard, E., Prakoso, B.B., Azis. 2005. A new record for the Bornean bay cat. *Cat News*, 43:23–4.
- Meijaard, E., Sheil, D., Daryono. 2005. Flat-headed cat record in east Kalimantan. *Cat News*, 43:24.
- Mendl, M. 1988. The effects of litter size variation on mother offspring relationships and behavioural and physical development in several mammalian species (principally rodents). *Journal of Zoology (Lond)*, 215:15-34.
- Michalski, F., Cranshaw, P.G., Oliveira, T.G.D., Fabian, M.E. 2007. Efficiency of box-traps and leg-hold traps with several bait types for capturing small carnivores (Mammalia) in a disturbed area of Southeastern Brazil. *Revista de Biologia Tropical*, 55:315-320.

- Milinkovitch, M.C., Monteyne, D., Gibbs, J.P., Fritts, T.H., Tapia, W., Snell, H.L., Tiedemann, R., Caccone, A., Powell, J.R. 2004. Genetic analysis of a successful repatriation programme: giant Galapagos tortoises. *En: Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271(1537):341-345.
- Miller, C.S., Petrunenko, Y.K., Goodrich, J.M., Hebblewhite, M.A.R.K., Seryodkin, I.V., Miquelle, D.G. 2011. Translocation a success, but poaching remains a problem for Amur tigers. *Cat News*, 55:22-25.
- Miller, D.L., Leopold, B.D., Gray, M.J., Woody, B.J. 1999. Blood parameters of clinically normal captive bobcats (*Felis rufus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 30(2):242-247.
- Miller, M., Weber, M., Neiffer, D., Mangold, B., Fontenot, D., Stetter, M. 2003. Anesthetic induction of captive tigers (*Panthera tigris*) using a medetomidine-ketamine combination. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 34:307–308.
- Mishra, C., Madhusudan, M.D., Datta, A. 2006. Mammals of the high altitudes of western Arunachal Pradesh, eastern Himalaya: an assessment of threats and conservation needs. *Oryx*, 40:29–35.
- Moberg, G.P. (Ed). 1987. Biological response to stress: key to assessment to animal well-being. *En: Animal Stress*. American Physiological Society, Bethesda, USA. Pp.27-49.
- Moen, R., Rasmussen, J.M., Burdett, C.L., Pelican, K.M. 2010. Hematology, serum chemistry, and body mass of free-ranging and captive Canada lynx in Minnesota. *Journal of wildlife diseases*, 46(1):13-22.
- Mohamed, A., Samejima, H., Wilting, A. 2009. Records of five Bornean cat species from Deramakot Forest Reserve in Sabah, Malaysia. *Cat News*, 51:12-15.
- Mohd-Azlan, J., Lading, E., Munau. 2003. Bornean bay cat photographs and sightings. *Cat News*, 39:2.
- Mohd-Azlan, J., Sanderson, J.G. 2007. Geographic distribution and conservation status of the bay cat *Catopuma badia*, a Bornean endemic. *Oryx*, 40:36-41.
- Montgomery, M., Ballou, J.D., Nurthen, R.K., England, P.R., Briscoe, D.A., Frankham, R. 1997. Minimizing kinship in captive breeding programs. *Zoo Biology*, 16:377–389
- Morton, D.J., Anderson, E., Foggin, C.M., Kock, M.D., Tiran, E.P. 1995. Plasma cortisol as an indicator of stress due to capture and traslocation in wildlife species. *The Veterinary Record*, 21:60-63.
- Möstl, E., Palme, R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic animal endocrinology*, 23(1):67-74.

- Moura-Costa, P. 1996. Tropical forestry practices for carbon sequestration: a review and case study from Southeast Asia. *Ambio* 25:279–283.
- Mowat, G., Slough, B. G., Rivard, R. 1994. A comparison of three live capturing devices for lynx: capture efficiency and injuries. *Wildlife Society Bulletin*, 22:644–650.
- Muir, W.W., Gadawski, J.E. 2002. Cardiovascular effects of a high dose of romifidine in propofol-anesthetized cats. *American Journal of Veterinary Research*, 63:1241–1246.
- Muñoz-Igualada, J., Shivik, J.A., Dominguez, F.G., Lara J., Mariano, L. 2008. Evaluation of cage traps and cable restraint devices to capture red foxes in Spain. *Journal of Wildlife Management*, 72:830–836.
- Munson L., Terio, K.A., Ryser-Degiorgis, M.P., Lane, E.P., Courcham, F. 2010. Wild felid diseases: conservation implications and management strategies. *En: Biology and Conservation of Wild Felids*. Macdonald, D.W., Loveridge, A.J. (Eds). Oxford University Press. Pp.247.
- Naidenko, S.V. 2006. Body mass dynamic in Eurasian lynx cubs during lactation. *Acta Theriologica*, 51:91-98.
- Nielsen, L. (Ed).1999.Chemical immobilization of wild and exotic animals. Iowa State University Press. Ames, Iowa. Pp.189-205.
- Nordt, S.P., Clark, R.F. 1997. Midazolam: a review of therapeutic uses and toxicity. *The Journal of Emergency Medicine*, 15(3):365.
- Nowell, K. 2007. Asian big cat conservation and trade control in selected range States: evaluating implementation and effectiveness of CITES recommendations. *TRAFFIC International*, Cambridge. UK.
- Nowell, K., Jackson, P. 1996. *Wild Cats: Status Survey and Conservation Plan*. IUCN, Gland, Switzerland. Pp.382.
- Oates, J. F. 1999. Myth and reality in the rainforest: how conservation strategies are failing in West Africa. University of California Press, Berkeley, California.
- O'Brien, M., Murphy, M.G., Lowe, J.A. 1998. Hematology and clinical chemistry parameters in the cat (*Felis domesticus*). *The Journal of Nutrition*, 128: 2678– 2679.
- Ocampo, L., Sumano, H. 1985. *Anestesia veterinaria en pequeñas especies*. Ed. McGraw-Hill de México. Naucalpan de Juárez. Pp.357.
- Oli, M.K., Taylor, I.R., Rogers, M.E. 1994. Snow leopard *Panthera uncia* predation of livestock: an assessment of local perceptions in the Annapurna Conservation Area, Nepal. *Biological Conservation*, 68:63–68.

- Onorato D., Belden, C., Cunningham, M., Land, D., McBride, R., Roelke, M. 2010. Long-term research on the Florida panther (*Puma concolor coryi*): historical findings and future obstacles to population persistence. *In: Biology and Conservation of Wild Felids*. Macdonald, D.W., Loveridge, A.J. (Eds). Oxford University Press. Pp.460.
- Osofsky, S.A. 1993. Ethical triage of free-ranging wildlife in Botswana. *World Association of Wildlife Veterinarians Newsletter*, 13:8-9.
- Osofsky, S.A. 1994. Botswana's wildlife resource: a veterinary perspective. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205:1381-1385.
- Osofsky, S.A., Hirsch, K.J. 2000. Chemical restraint of endangered mammals for conservation purposes: a practical primer. *Oryx*, 34(1):27-33.
- Paddleford, R.R., Harvey, R.C. 1999. Alpha-2 agonists and antagonists. *Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice*, 29:737-745.
- Parrot, R.F., Bison, B.H., De la Riva, C.F. 1994. Differential stressor effects on the concentrations of cortisol, prolactin, and catecholamines in the blood of sheep. *Research in Veterinary Science*, 56:234-239.
- Peinado, V.I., Fernández-Arias, A., Viscor, G., Palomeque, J. 1993. Haematology of Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) restrained by physical or chemical means. *Veterinary Record*, 132:580-583.
- Pimm, S.L., Russell, G.J., Gittleman, J.L., Brooks, T.M. 1995. The future of biodiversity. *Science*, 269:347-350.
- Plumb, D.C. 2005. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 5th Ed. Blackwell Publishing Professional. Ames, Iowa. Pp.1096-1097.
- Powell, R.A. 2005. Evaluating welfare in American black bears (*Ursus americanus*) captured in foot snares and in winter dens. *Journal of Mammalogy*, 86:1171-1177.
- Powell, R.A., Proulx, G. 2003. Trapping and marking terrestrial mammals for research: Integrating ethics, performance criteria, techniques, and common sense. *Institute for Laboratory Animal Research*, 44:259-276.
- Przkop, F., Stupnicka, E., Wolinska-Witort, E., Mateusiak, K., Sadowski, B., Domanski, E. 1985. Changes in circadian rhythm and suppression of the plasma cortisol level after prolonged stress in the sheep. *Acta Endocrinologica*, 110:540-5.
- Pypendop, B., Serteyn, D., Verstegen, J. 1996. Hemodynamic effects of medetomidine-midazolam-butorphanol and medetomidine-midazolam-buprenorphine combinations and reversibility by atipamezole in dogs. *American Veterinary Journal of Research*, 57:724-730.

- Pypendop, B., Verstegen, J. 1999. Cardiorespiratory effects of a combination of medetomidine, midazolam, and butorphanol in dogs. *Veterinary Journal of Research*, 60:1148–1154.
- Quandt, S.K.F. 1992. The pharmacology of medetomidine in combination with ketamine hydrochloride in African lions (*Panthera leo*). Tesis Master (Wildlife Diseases), University of Pretoria, South Africa.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>. Acceso 15 de Junio 2013.
- Rabinowitz, A. 1990. Notes on the behavior and movements of leopard cats, *Felis bengalensis*, in a dry tropical forest mosaic in Thailand. *Biotropica*, 22(4):397-403.
- Rabinowitz, A. 1995. Helping a species go extinct: the Sumatran rhino in Borneo. *Conservation Biology*, 9:482–488.
- Rabinowitz, A., Andau, P., Chai, P.P.K. 1987. The clouded leopard in Malaysian Borneo. *Oryx*, 21:107-111.
- Rahbek, C. 1993. Captive breeding—a useful tool in the preservation of biodiversity? *Biodiversity and Conservation*, 2:426–437.
- Rajaratnam, R., Sunquist, M., Rajaratnam, L., Ambu, L. 2007. Diet and habitat selection of the leopard cat (*Prionailurus bengalensis borneoensis*) in an agricultural landscape in Sabah, Malaysian Borneo. *Journal of Tropical Ecology*, 23(2):209-217.
- Ramirez, O., Altet, L., Ensenat, C., Vila, C., Sanchez, A., Ruiz, A. 2006. Genetic assessment of the Iberian wolf *Canis lupus signatus* captive breeding program. *Conservation Genetics*, 7:861-878.
- Rautner, M., Hardiono, M., Alfred, R.J. 2005. Borneo: Treasure Island At Risk. Status of Forest, Wildlife and Related Threats on the Island of Borneo. WWF Germany, Frankfurt am Main.
- Read, B., Meier, J. 1996. Neonatal care protocols. *En: Wild mammals in captivity*. Kleiman, G., Allen, M., Thompson, K., Lumpkin, S. (Eds). The University of Chicago Press. Pp. 45-90.
- Read, M.R., Caulkett, N.A., Callister, M.M. 2000. Use of zuclopenthixol acetate to decrease handling stress in wapiti (*Cervus elaphus*). *En: Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians*. USA. Pp.115-118.
- Reeder, D.M., Kramer, K.M. 2005. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. *Journal of Mammalogy*, 86(2):225-235.

- Reich, D.L., Timcenko, A., Bodian, C.A., Kraidin, J., Hofman, J., DePerio, M., Konstadt, S.N., Kurki, T., Eisenkraft, J.B. 1996 Predictors of pulseoximetry data failure. *Anesthesiology*, 84:859–864.
- Reves, J.G., Fragen, R.J., Vinik, R., Greenblatt, D.J. 1985. Midazolam: pharmacology and uses. *Anesthesiology*, 62:310-24.
- Reynolds, G., Payne, J., Sinun, W., Mosigil, G., Walsh, R.P.D. 2011. Changes in forest land use and management in Sabah, Malaysian Borneo, 1990-2010, with a focus on the Danum Valley region. *Philosophical Transactions of The Royal Society Series B*, 366:3168–3176.
- Rivas, A., Martínez, F., Sánchez, I., Aguilar, J.M., Quevedo, M.A. Bergara, J., Vazquez, E., Cuadrado, M., Vargas, A. Hand-rearing of Iberian lynx cubs. *En: Iberian Lynx ex situ conservation: An interdisciplinary approach*. Vargas, A., Breitenmoser, C., Breitenmoser, U. (Eds). Madrid: Fundación Biodiversidad. Pp. 108-126.
- Roelke-Parker M.E., Munson, L., Packer, C., Kock, R., Cleaveland, S., Carpenter, M., O'Brien, S.J., Pospischil, A., Hofmann-Lehmann, R., Lutz, H., Mwamengele, G.L.M., Mgasa, M.N., Machange, G.A., Summers, B.A., Appel, M.J.G. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*, 379:441–445.
- Ross, J., Hearn, A.J., Bernard, H., Secoy, K., Macdonald, D.W. 2010. A framework for a Wild Cat Action Plan for Sabah, Global Canopy Programme, Oxford, UK.
- Russello, M.A., Amato, G. 2004. *Ex situ* population management in the absence of pedigree information. *Molecular Ecology*, 13:2829-2840.
- Russello, M.A., Amato, G. 2007. On the horns of a dilemma: molecular approaches refine ex situ conservation in crisis. *Molecular Ecology*, 16(12):2405-2406.
- Salakij, C., Salakij, J., Prihirunkit, K., Narkkong, N.A., Pitakkingthong, D. 2010. Characterization of blood cells in the Leopard Cat (*Prionailurus bengalensis*). *Veterinary Clinical Pathology*, 39(2):193-8.
- Sanderson, E.W., Redford, K.H., Chetkiewicz, C.B., Medellin, R.A., Rabinowitz, A.R., Robinson, J.G., Taber, A.B. 2002. Planning to save a species: the jaguar as a model. *Conservation Biology*, 16:58-72.
- Santiapillai, C. 1989. The status and conservation of the clouded leopard (*Neofelis nebulosa diardi*) in Sumatra. *Tigerpaper*, 16(1):1-7.
- Santiapillai, C., Ashby, K.R. 1988. The clouded leopard in Sumatra. *Oryx*, 22:44-45.
- Santiapillai, C., Suprahman, H. 1985. On the status of the leopard cat (*Felis bengalensis*) in Sumatra. *Tigerpaper*, 12(3):8-13.
- SAS Institute .2001. SAS/STAT User's Guide (Release 8.2). SAS Institute, Cary NC, USA.

- Savola, J.M., Ruskoahom, H., Puurunen, J., Karki, N.T. 1985. Cardiovascular action of detomidine, a sedative and analgesic derivative with alpha-agonists properties. *European Journal of Pharmacology*, 118:69-76.
- Scheick, B.K., Cunningham, M.W., McCown, J.W., Orlando, M.A. 2009. Anchor modification for a foot-hold snare to capture American black bears. *Ursus*, 20(10): 47-49.
- Schmidtt, H., Fomadjiev, G., Schmitt, H. 1970. Central and peripheral effects of 2-(2,6-dimethylphenylamino)-4-H-5,6-dihydro-1,3-thiazin (Bayer 1470) on the sympathetic system. *European Journal of Pharmacology*, 10:230-238.
- Seal, U.S., Hoskinson, R.L. 1978. Metabolic indicators of habitat condition and capture stress in pronghorns. *Journal of Wildlife Management*, 42:755-763.
- Seal, U.S., Verme, L.J., Ozoga, J.J., Ericsson, A.W. 1972. Nutritional effects of thyroid activity and blood of white-tailed deer. *Journal of Wildlife Management*, 36:1041-1056.
- Selmi, A.L., Barbudo-Selmi, G.R., Moreira, C.F., Martins, C.S., Lins, B.T., Mendes, G.M., McManus, C. 2002. Evaluation of sedative and cardiorespiratory effects of romifidine and romifidine-butorphanol in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(4):506-510.
- Selye, H. 1946. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *Journal of Clinical Endocrinology*, 6:117-230.
- Shindle, D.B., Tewes, M.E. 2000. Immobilization of wild ocelots with tiletamine zolazepam in southern Texas. *Journal of Wildlife Diseases*, 36:546-550.
- Shivik, J.A., Martin, D.J., Pipas, M.J., Turnan, J., DiLiberto, T.J. 2005. Initial comparison: jaws, cables and cage traps to capture coyotes. *Wildlife Society Bulletin*, 33: 1375-1383.
- Silverman, A.G., Wilner, H.I., Okun, R. 1970. A case of gastrointestinal bleeding following the use of tolazoline. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 16:318-320.
- Sinclair, M.D. 2003. A review of the physiological effects of α -2-agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice. *Canadian Veterinary Journal*, 44:885-897.
- Smith, G.S. 2000. Neutrophils. *En: Schalm's Veterinary Hematology*. 5 Ed. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. (Eds). Lipincott Williams & Wilkins: Philadelphia, Pennsylvania. Pp.281-296.
- Smith, D.J., Bouchal, R.L., Desanctis, C.A., Monroe, P.J., Amedro, J.B., Perrotffi, J.M., Crisp, T. 1987. Properties of the interaction between ketamine and opiate binding sites in vivo and in vitro. *Neuropharmacology*, 26:1253-1260.

- Snyder, N.F.R., Derrickson, S.R., Beissinger, S.R., Wiley, J.W., Smith, T.B., Toone, W.D., Miller, B. 1996. Limitations of captive breeding in endangered species recovery. *Conservation Biology*, 10:338–348.
- SPSS version 15.0. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 15.0. IBM Corp. Chicago, Illinois, USA
- SPSS versión 21.0. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. IBM Corp. Armonk, NY: IBM Corp. USA.
- Stoelting, R.K. (Ed). 1987. Pharmacology and physiology in anesthetic practice. Lippincott, Philadelphia.
- Sunquist, M., Sunquist, F. 2002. Wild cats of the World. The University of Chicago Press, Chicago, USA. Pp. 452.
- Sunquist, M.E. Sunquist, F.C. 2009. Family *Felidae* (cats). *En: Handbook of the mammals of the world*. Vol.1. Wilson, D.E., Mittermeier, R.A. (Eds). Lynx Edicions. Barcelona, Spain. Pp.54-168.
- Suzán, G., Ceballos, G. 2005. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves within Mexico City limits. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(3):479–484.
- Tarpley, H.L., Bounous, D.I. 2011. Digestive System. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp.231-245.
- Teare, J.A. (Ed). (2002). Reference ranges for physiological values in captive wildlife. International Species Information System, Apple Valley, Minnesota.
- Terlouw, E.M., Schouten, W.G.P., Ladewig, J. 1997. Physiology. *En: Appleby, M.C., Hughes, B.O. (Eds). Animal Welfare*. Cambridge: CAB International, University Press. Pp.143–58.
- Tisen, O., Azlan, M. 2013. Recent record of a flat headed cat from a rural area in Sarawak, Malaysia. *Cat News*, 48:50-51.
- Thomas, G.A., Askins, W.E. 1985. Improved padded leghold trap. Patent WO 1985002318 A1.
- Thurmon, J.C., Nelson, D.R., Christie, G.J. 1972. Ketamine anesthesia in swine. *American Journal of Veterinary Research*, 160:1325-1330.
- Tomizawa, N., Tsujimoto, T., Itoh, K., Ogino, T., Nakaruma, K., Hara, S. 1997. Chemical restraint of African lions (*Panthera leo*) with medetomidine-ketamine. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 59:307–310.

- Tracy, C.H., Short, C.E., Clark, B.C. 1988. Comparing the effects of intravenous and intramuscular administration of Telazol. *Veterinary Medicine*, 83:104-111.
- Tranquilli, W.J., Lemke, K.A., Williams, L.L., Ballard, G., Ko, J.C.H., Benson, G.J., Thurman, J.C. 1992. Flumazenil efficacy in reversing diazepam or midazolam overdose in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19:65-68.
- Tranquilli, W.J., Maze, M. 1993. Clinical pharmacology and use of alpha-2 agonists in veterinary anesthesia. *Anesthetic Pharmacology Review*, 1:297-309.
- Tripathi, N.K., Gregory, C.R., Latimer, K.S. 2011. Urinary system. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp. 253-280.
- Vargas, A., Sánchez, I., Martínez, F., Rivas, A., Godoy, J. A., Roldan, E. Breitenmoser, U. 2008. The Iberian lynx *Lynx pardinus* conservation breeding program. *International Zoo Yearbook*, 42(1):190-198.
- Verde, M.T., Gascon, M. 1987. Mecanismo de estrés en animales domésticos. *Medicina Veterinaria*, 4:455-464.
- Verstegen, J., Fargetton, X., Zanker, S., Donnay, I., Ectors, F. 1991. Antagonistic activities of atipamezole, 4-aminopyridine and yohimbine against medetomidine/ketamine-induced anaesthesia in cats. *Veterinary Record*, 128:57-60.
- Virtanen, R., Nyman, L. 1985. Evaluation of the alpha 1- and alpha 2-adrenoreceptor effects of detomidine, a novel veterinary sedative analgesic. *European Journal of Pharmacology*, 108:163-169.
- Wack, R.F., Kramer, L.W., Cupps, W., Currie, P. 1991. Growth rate of 21 captive-born, mother-raised cheetah cubs. *Zoo Biology*, 10:273-276.
- Wack, R.F. 2003. Felidae. *En: Zoo and Wild Animal Medicine*, 5^a Edn. Fowler M.E., Miller R.E. (Eds). W.B. Saunders, Philadelphia. Pp.491-500.
- Walzer, C., Huber, C. 2002. Partial antagonism of tiletamine-zolazepam anesthesia in cheetah. *Journal of Wildlife Diseases*, 38(2): 468-472.
- Waterman, A.E. 1983. Influence of premedication with xylazine on the distribution and metabolism of intramuscularly administered ketamine in cats. *Research in Veterinary Science*, 35:285-290.
- Way, J.G., Ortega, I.M., Auger, P.J., Strauss, E.G. 2002. Boxtrapping of coyotes in southeastern Massachusetts. *Wildlife Society Bulletin*, 30:695-702.
- Weaver, J.L., Johnson, R. 1995. Hematologic and serum chemistry values of captive Canadian lynx. *Journal of Wildlife Diseases*, 31:212-215.

- Webb, J.L., Latimer, K.S. 2011. Leucocytes. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp.76-77.
- Weissengruber, G.E., Forstenpointner, G., Peters, G., Kübber-Heiss, A., Fitch, W.T. 2002. Hyoid apparatus and pharynx in the lion (*Panthera leo*), jaguar (*Panthera onca*), tiger (*Panthera tigris*), cheetah (*Acinonyx jubatus*) and domestic cat (*Felis silvestris f. catus*). *Journal of Anatomy*, 201(3):195-209.
- White, P.J., Kreeger, T.J., Seal U.S., Tester J.R. 1991. Pathological responses of red foxes to capture in box traps. *Journal of Wildlife Management*, 55(1):75-80.
- Widmer, C.E., Hagiwara, M.K., Ferreira, F., Azevedo, F.C.C. 2012. Hematology and serum biochemistry of free ranging jaguars (*Panthera onca*). *Journal of Wildlife Diseases*, 48(4):1113-1118.
- Wielebnowski, N.C., Fletchall, N., Carlstead, K., Busso, J.M., Brown, J.L. 2002. Non-invasive assessment of adrenal activity associated with husbandry and behavioral factors in the North American clouded leopard population. *Zoo Biology*, 21:77-98.
- Wiepkema, P.R., Kolhaas, J.M. 1993. Stress and animal welfare. *Animal Welfare*, 2:195-218.
- Wildt, DE., Howard, J.G., Chakraborty, P.K., Bush, M. 1986. Reproductive physiology of the clouded leopard: II. A circannual analysis of adrenal-pituitary-testicular relationships during electroejaculation or after an adrenocorticotropin hormone challenge. *Biology of Reproduction*, 34:949-959.
- Williams, E.S., Thorne, T. 1996. Exertional myopathy (capture myopathy). *En: Non infectious diseases of wildlife*. 2nd Edn. Fairbrother, A., Locke, N.L., Hoff, G.L. (Eds). Ames, Iowa State University Press. Pp. 181-193.
- Wilting A., Buckley-Beason, V.A., Feldhaar, H., Gadau J., O'Brien, S.J., Linsenmair K.E. 2007. Clouded leopard phylogeny revisited: support for species recognition and population division between Borneo and Sumatra. *Frontiers in Zoology*, 4:15.
- Wilting, A., Cord, A., Hearn, A.J., Hesse, D., Mohamed, A., Traeholdt, C., Cheyne S.M., Sunarto Sunarto, Mohd-Azlan J., Ross, J., Shapiro, A.C., Sebastian, A., Dech, S., Breitenmoser, C., Sanderson, J., Duckworth, J.W., Hofer, H. 2010. Modelling the species distribution of flat-headed cats (*Prionailurus planiceps*), an endangered South-East Asian small felid. *PloS ONE*, 5(3):e9612.
- Wilting, A., Feldhaar, H., Buckley-Beason, V.A., Linsenmair, K.E., O'Brien, S.J. 2007. Two modern species of clouded leopards: a molecular perspective. *Cat News*, 47:10-11.

- Wilting, A., Fischer, F., Abu Bakar, S., Linsenmair, K.E. 2006. Clouded leopards, the secretive top-carnivore of the South East Asian rainforests: their distribution, status and conservation needs in Sabah, Malaysia. *BMC Ecology*, 6:16.
- Wilting, A., Mohamed, A., Ambu, L.N, Lagan, P., Mannan, S., Sollmann, R. 2012. Density of the Sunda clouded leopard *Neofelis diardi* in two commercial forest reserves in Sabah, Malaysian Borneo. *Oryx*, 46(03):423-426.
- Wingfield, J.C., Hunt, K., Breuner, C., Dunlap, K., Fowler, G.S., Freed, L., Lepson, J., 1997. Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. *En: Behavioral approaches to conservation in the wild*. Clemmons, J.R., Buchholz, R. (Eds). Cambridge University Press. Cambridge, New York. Pp.95-131.
- Wisely, S.M., McDonald, D.B., Buskirk, S.W. 2003. Evaluation of the genetic management of the endangered black footed ferret (*Mustela nigripes*). *Zoo Biology*, 22:287-298.
- Wolfe, L.L., Fisher, M.C., Davis, T.R., Miller, M.W. 2014. Efficacy of a low-dosage combination of butorphanol, azaperone, and medetomidine (BAM) to immobilize Rocky Mountain elk. *Journal of Wildlife Diseases*, 50(3):676-680.
- Wolkers, H., Wensing, T., Schonewille, J.T. 1994. Effect of undernutrition on haematological and serum biochemical characteristics in red deer (*Cervus elaphus*). *Canadian Journal of Zoology*, 72(7):1291-1296.
- Wong, S.T., Servheen, C., Ambu, L. 2004. Home range, movements and activity patterns, and bedding sites of Malayan sun bears *Helarctos malayanus* in the rainforest of Borneo. *Biological Conservation*, 119:169-181.
- Woodroffe, R. 2000. Predators and people: using human densities to interpret declines of large carnivores. *Animal Conservation*, 3:165-173.
- Woodroffe, R. 2001. Strategies for carnivore conservation: lessons from contemporary extinctions. *En: Carnivore Conservation*. Gittleman, J.L., Funk, S.M., MacDonald, D.W., Wayne, R.K. (Eds). Cambridge University Press, Cambridge, UK. Pp.61-92.
- Woodroffe, R., Bourne, F.J., Cox, D.R., Donnelly, C.A., Gettinby, G., McInerney, J.P. Morrison, W.I. 2005. Welfare of badgers (*Meles meles*) subjected to culling: Patterns of trap-related injury. *Animal Welfare*, 14:11-17.
- Wright, M. 1982. Pharmacological effects of ketamine and its use in veterinary medicine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 180(12):1462-1471.
- Wright George, J., Zabolotzky, S.N. 2011. Water, electrolytes, and acid base. *En: Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5^a Edn. Latimer, K.S. (Ed). Blackwell, Ames, Iowa. Pp.145-169.
- Yasuda, M., Matsubayashi, H., Rustam, Numata, S., Sukor, J.R.A., Abu Bakar, S. 2007. Recent records by camera traps in Peninsular Malaysia and Boreno. *Cat News*, 47:14-16.

Young, K.M. 2000. Eosinophils. *En: Schalm's Veterinary Hematology*. 5 Edn. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. (Eds). Lipincott Williams & Wilkins: Philadelphia, Pennsylvania. Pp.297-307.

Zeller, K. 2007. Jaguars in the New Millennium Data Set Update: The State of the Jaguar in 2006. Wildlife Conservation Society, New York. Pp.8-44.